



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

IMPACTO DEL DISTURBIO DEL SUELO EN LA ROTACIÓN CON ABONOS
VERDES (VICIA SATIVA L.-ZEA MAYS L.) SOBRE LA INTERACCIÓN PLANTA-
MICORRIZA-SUELO Y EN LA DINÁMICA DE NUTRIENTES

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DAVID ALFONSO ORTIZ SALGADO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOHN LARSEN

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. FELIPE GARCÍA OLIVA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

DR. ALEJANDRO ALARCON

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNAM

MÉXICO, CD. MX. MAYO, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
MANEJO INTEGRAL DE ECOSISTEMAS

**IMPACTO DEL DISTURBIO DEL SUELO EN LA ROTACIÓN CON ABONOS
VERDES (VICIA SATIVA L.-ZEA MAYS L.) SOBRE LA INTERACCIÓN PLANTA-
MICORRIZA-SUELO Y EN LA DINÁMICA DE NUTRIENTES**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

DAVID ALFONSO ORTIZ SALGADO

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: DR. JOHN LARSEN

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DR. FELIPE GARCÍA OLIVA

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

DR. ALEJANDRO ALARCON

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS, UNAM

MEXICO, CD. MX. MAYO, 2022

COORDINACIÓN DEL POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

ENTIDAD IIES-M

OFICIO CPCB/328/2021

ASUNTO: Oficio de Jurado

M. en C. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que, en la reunión ordinaria del Comité Académico del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día **06 de diciembre de 2021**, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **DOCTOR EN CIENCIAS**, del estudiante **ORTIZ SALGADO DAVID ALFONSO**, con número de cuenta **301656128**, con la tesis titulada, **“IMPACTO DEL DISTURBIO DEL SUELO EN LA ROTACIÓN CON ABONOS VERDES (*Vicia sativa* L.-*Zea mays* L.) SOBRE LA INTERACCIÓN PLANTA-MICORRIZA-SUELO Y EN LA DINÁMICA DE NUTRIENTES”**, realizada bajo la dirección del **DR. JOHN LARSEN**, quedando integrado de la siguiente manera:

Presidente: DRA. MARIELA HADA FUENTES PONCE
Vocal: DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO
Vocal: DR. BRUNO MANUEL CHÁVEZ VERGARA
Vocal: DRA. MARIANA BENÍTEZ KEINRAD
Secretario: DR. FELIPE FRANCISCO GARCIA OLIVA

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU”
Ciudad Universitaria, Cd. Mx., a 04 de abril de 2022

COORDINADOR DEL PROGRAMA



DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Agradezco profundamente al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, la cual es mi casa de estudios y represento con mucho orgullo.

Al Programa de Becas de Posgrado y otras modalidades de Apoyo a la Calidad Nacionales de Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por la beca otorgada para la realización del Doctorado en Ciencias Biológicas en el programa referido.

Al proyecto de SEP-CONACYT (2012-179319) Importancia de los microbios benéficos de la rizosfera en la producción sustentable de maíz.

Al apoyo del PAEP del Posgrado de Ciencias Biológicas por su apoyo recibido para la presentación de este trabajo en el congreso internacional ICOM 10 en Mérida, Yucatán, México.

A Rodrigo Velázquez-Duran y Ana Lidia Sandoval Pérez por el apoyo de los análisis químicos en el Laboratorio de Biogeoquímica de Suelos y en el Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad (LANIES), respectivamente, ambos en el IIES, UNAM.

A los miembros del Comité Tutor, al Dr. John Larsen, al Dr. Felipe García Oliva y al Dr. Alejandro Alarcón por sus valiosos comentarios y sugerencias para mejorar mi trabajo.

Impacto del disturbio del suelo en la rotación con abonos verdes (*Vicia sativa* L.-*Zea mays* L.) sobre la interacción planta-micorriza-suelo y en la dinámica de nutrientes

ÍNDICE DE CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
CAPÍTULO 1. Introducción.....	5
<i>1.1 Panorama de los agroecosistemas actuales.....</i>	<i>6</i>
<i>1.1.1 Efectos de las prácticas agrícolas en la fertilidad del suelo.....</i>	<i>7</i>
<i>1.1.2 Efectos de las prácticas agrícolas en la rizosfera y su relevancia en los agroecosistemas.....</i>	<i>8</i>
<i>1.1.3 Sistemas diversificados para mejorar el funcionamiento de los agroecosistemas... ..</i>	<i>9</i>
<i>1.2 Diversificación de cultivos con Abonos Verdes (AV).....</i>	<i>10</i>
<i>1.2.1 Efectos de los AV en el suelo.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.1.1 Efectos en las propiedades físicas del suelo.....</i>	<i>11</i>
<i>1.2.1.2 Efectos en la fertilidad del suelo.....</i>	<i>12</i>
<i>1.2.1.3 Efectos de los AV en la microbiota edáfica.....</i>	<i>14</i>
<i>1.2.1.4 Factores que influyen en la descomposición de los AV y liberación de nutrientes.....</i>	<i>15</i>
<i>1.2.2 Usos de los Abonos Verdes.....</i>	<i>16</i>

1.2.2.1 AV cómo fertilizantes.....	16
1.2.2.2 AV cómo reactivador de la microbiología edáfica.....	17
1.2.2.3 AV cómo control biológico.....	17
1.2.2.4 AV cómo forraje.....	18
1.2.3 Servicios Ecosistémicos en agroecosistemas diversificados con AV.....	18
1.3 Efectos de las prácticas agrícolas y la diversificación de cultivos con AV en los HMA y microorganismos asociados.....	19
1.3.1 Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rizosfera.....	21
1.3.2 Flujo de nutrientes (C, N y P) entre el fotobionte (planta) y el micobionte (HMA)	23
1.4 Importancia del agroecosistema maíz-leguminosa.....	27
1.4.1 Janamargo como AV.....	28
1.4.2 Maíz como cultivo.....	29
1.4.3 Taxonomía y características biológicas del maíz.....	29
1.5 Justificación.....	30
1.6 Objetivos.....	31
1.7 Hipótesis.....	32
1.8 Modelo hipotético del flujo de nutrientes en el agrosistema de estudio.....	32
1.9 Estructura de la tesis.....	35
1.10 Referencias.....	38

CAPÍTULO 2. Efectos de la incorporación en el suelo de abonos verdes leguminosos en la actividad microbiológica y en la disponibilidad de N en el suelo.....	56
<i>Resumen.....</i>	57
2.1 <i>Introducción.....</i>	58
2.2 <i>Materiales y método.....</i>	61
2.2.1 <i>Sitio y suelo.....</i>	61
2.2.2 <i>Diseño experimental y protocolo.....</i>	62
2.2.3 <i>Tratamientos con abonos verdes.....</i>	62
2.2.4 <i>Fertilización mineral.....</i>	63
2.2.5 <i>Concentración de N y P en material vegetal de janamargo.....</i>	63
2.2.6 <i>Respiración microbiana.....</i>	64
2.2.7 <i>Nutrientes en el suelo.....</i>	64
2.2.8 <i>Análisis estadísticos.....</i>	64
2.3 <i>Resultados.....</i>	65
2.3.1 <i>Biomasa y nutrientes incorporados con el janamargo.....</i>	65
2.3.2 <i>Actividad microbiana.....</i>	65
2.3.3 <i>Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH_4^+, NO_3^-).....</i>	67
2.4 <i>Discusión de resultados.....</i>	69
2.4.1 <i>Actividad microbiana.....</i>	69
2.4.2 <i>Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH_4^+, NO_3^-).....</i>	71
2.5 <i>Conclusiones.....</i>	72
2.6 <i>Referencias.....</i>	73

CAPÍTULO 3. Soil physical disturbance reduces maize growth, nutrition and mycorrhiza

formation in a green manure rotation with vetch..... 78

<i>Abstract</i>	79
<i>3.1 Introduction</i>	79
<i>3.2 Materials and methods</i>	80
<i>3.2.1 Experimental design</i>	80
<i>3.2.2 Soil</i>	80
<i>3.2.3 Experimental set-up</i>	80
<i>3.2.4 Vetch growth phase and decomposition</i>	80
<i>3.2.5 Soil physical disturbance before maize sowing</i>	80
<i>3.2.6 Maize growth phase</i>	80
<i>3.2.7 Mineral fertilization during the maize growth phase</i>	80
<i>3.2.8 Plant growth parameters of vetch</i>	81
<i>3.2.9 Harvest and analyses</i>	81
<i>3.2.10 Statistical analysis</i>	81
<i>3.3 Results</i>	81
<i>3.3.1 Biomass and nutrients content (N an P) incorporated with the vetch</i>	81
<i>3.3.2 Maize plant growth parameters</i>	81
<i>3.3.3 Soil nutrients (NH⁴⁺, NO₃⁻ and HPO₄²⁻)</i>	82
<i>3.3.4 Maize AMF root colonization</i>	82
<i>3.3.5 Correlations between variables measured</i>	83
<i>3.4 Discussion</i>	83
<i>3.5 References</i>	85

CAPÍTULO 4. Importancia de la rotación de cultivos con abonos verdes en la interacción

del maíz con la micorriza arbuscular.....	86
<i>Resumen.....</i>	87
<i>4.1 Introducción.....</i>	88
<i>4.2 Materiales y método.....</i>	91
<i>4.2.1 Suelo y Diseño experimental.....</i>	91
<i>4.2.3 Tratamientos con abonos verdes.....</i>	91
<i>4.2.3 Tratamientos para control de HMA con Carbendazim.....</i>	92
<i>4.2.4 Tratamientos con fertilización mineral.....</i>	93
<i>4.2.5 Cultivo de maíz.....</i>	93
<i>4.2.6 HMA en el suelo y en la raíz de maíz.....</i>	94
<i>4.2.7 Análisis estadísticos.....</i>	95
<i>4.3 Resultados.....</i>	95
<i>4.3.1 Producción de biomasa en el maíz (peso seco)</i>	96
<i>4.3.2 Colonización y micelio externo de HMA.....</i>	98
<i>4.3.3 Respuesta de crecimiento a la micorriza sin Carbendazim.....</i>	100
<i>4.4 Discusión de resultados.....</i>	101
<i>4.5 Conclusiones.....</i>	105
<i>4.6 Referencias.....</i>	106

CAPÍTULO 5. Evidencias en campo de los efectos de la fertilización mineral en la rotación abono verde-maíz y en la interacción del maíz con las micorrizas arbusculares.....

111

<i>Resumen.....</i>	112
<i>5.1 Introducción.....</i>	113
<i>5.2 Materiales y método.....</i>	116
<i>5.2.1 Parcela de estudio.....</i>	116
<i>5.2.2 Diseño experimental.....</i>	116
<i>5.2.3 Tratamientos de labranza con abonos verdes.....</i>	117
<i>5.2.4 Tratamientos para control de HMA con Carbendazim.....</i>	117
<i>5.2.5 Cultivo de maíz.....</i>	118
<i>5.2.6 Tratamientos con fertilización mineral.....</i>	118
<i>5.2.7 Cosechas y análisis de Laboratorio.....</i>	119
<i>5.2.8 Concentración de N y P en material vegetal.....</i>	119
<i>5.2.9 Nutrientes en el suelo.....</i>	120
<i>5.2.10 HMA en el suelo y en la raíz de maíz.....</i>	120
<i>5.2.11 Análisis estadísticos.....</i>	121
<i>5.3 Resultados.....</i>	122
<i>5.3.1 Biomasa y nutrientes incorporados con el janamargo.....</i>	122
<i>5.3.2 Biomasa y nutrición vegetal del maíz (Vt y R1)</i>	122
<i>5.3.3 Biomasa y nutrición senescencia (Sns).....</i>	124
<i>5.3.4 Productividad y calidad de grano.....</i>	126
<i>5.3.5 Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH₄⁺, NO₃⁻)</i>	128

5.3.6 Relación Nitrato/Amonio.....	129
5.3.7 Colonización con HMA.....	129
5.4 Discusión de resultados.....	131
5.5 Conclusiones.....	138
5.6 Referencias.....	139
Material Suplementario.....	147
CAPÍTULO 6. Discusión general y conclusiones.....	153
6.1 Discusión general.....	154
6.1.1 Importancia de la incorporación de materia orgánica en la fertilidad del suelo.....	154
6.1.2 Modelo del flujo de nutrientes en el agroecosistema con rotación con AV (janamargo-maíz).....	156
6.1.3 Efectos de la labranza y perturbación del suelo con AV.....	158
6.1.4 Manejo de la fertilización mineral.....	158
6.1.5 Efectos de las prácticas agrícolas (rotación de cultivos e incorporación de AV, labranza y fertilización mineral) en la interacción entre los HMA y el maíz.....	160
6.1.6 Perspectivas e implementación del uso de los AV cómo una práctica generalizada.....	162
6.2 Conclusiones.....	164
5.6 Referencias.....	165

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO 1

Figura 1. Modelo del agrosistema estudiado en esta investigación (Abono verde- Microorganismos y suelo – Maíz). Se muestra el flujo de nutrientes en el suelo, microorganismos y plantas.

CAPÍTULO 2

Figura 1. Gráfico de la respiración microbiana durante la incubación (a) mostrando la respiración diaria usando el promedio de respiración entre intervalos. También se muestra el $\text{CO}_2\text{-C}$ total emitido después de 19 días de incubación en los diferentes tratamientos (b). Factores: Abono Verde (sin Janamargo, con Janamargo incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 2. Interacción entre factores Abono Verde \times NPK, con los promedios de la concentración de NH_4^+ (a) y NO_3^- (b) disponibles en el suelo después de 19 días, así como de la relación $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ (c). Factores: Abono Verde (sin Janamargo, con Janamargo incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

CAPITULO 3

Figure 1. Factor treatments means for the interaction “Green manure (GM) \times NPK” for total maize

dry weight. Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different ($n=10$).

Figure 2. Cob dry weight factor treatment means for the factors a) Green manure (incorporated and not incorporated), b) Soil physical disturbance (with and without) and c) NPK (with and without). Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different ($n=20$).

Figure 3. Total cob N and P content for the factor treatment means for Green manure (a,b), Soil physical disturbance (c,d) and NPK (e,f). Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different ($n=20$).

Figure 4. Soil NO_3^- concentration treatment factor means for the factor Green manure (incorporated and not incorporated) before maize sowing (a, $n=20$) and for the “Green manure x Soil physical disturbance” interaction after maize harvest (b, $n=10$). The inserted line t0 represents the soil NO_3^- concentration before vetch sowing. Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different.

Figure 5. Soil HPO_4^{2-} concentration treatment factor means for the factor Green manure (incorporated and not incorporated) before maize sowing (a, $n=20$) and after maize harvest (b, $n=20$). The inserted line t0 represents the soil NO_3^- concentration before vetch sowing. Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different.

Figure 6. AMF root colonization factor treatment means for the factors a) Green manure (incorporated and not incorporated), b) Soil disturbance (with and without) and c) NPK (with and without). Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are

significantly different ($n=20$).

CAPÍTULO 4

Figura 1. Promedio del peso seco aéreo del janamargo (a) y del peso seco total del maíz (b). Factores: Carbendazim (sin y con Carbendazim). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 2. Interacciones entre factores ($AV \times NPK$) con los promedios del peso seco total del maíz. Factores: Abono Verde (sin AV, AV sin incorporar, AV incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 3. Promedio del porcentaje de colonización de HMA en las raíces de maíz. Factores: Carbendazim (sin y con Carbendazim). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 4. Contenido en el suelo del biomarcador de ácido graso 16:1w5 antes de sembrar el maíz (a) sin y con Carbendazim y después de cosechar el maíz (b) con Abono Verde (sin AV, AV sin incorporar, AV incorporado). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 5. Respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim con el factor Abono Verde (sin AV, AV incorporado, AV sin incorporar). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la

prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

CAPÍTULO 5

Figura 1. Gráfico de la interacción entre los factores (Carbendazim \times NPK) con los promedios de peso seco total de maíz (a) y peso seco de rastrojo (b). Los valores son por cada planta. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 2. Gráfico de la interacción de los factores (Abono verde \times Carbendazim) con los promedios del contenido de nitrógeno total en el grano de maíz. Los valores son por cada planta. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y Carbendazim (sin y con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 3. Gráfico con los promedios del contenido de nitrógeno total en grano de maíz sólo sin (a) y con (b) tratamientos con Carbendazim. Los valores son por cada planta. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y Carbendazim (sin y con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 4. Gráfico de interacción entre factores (Carbendazim \times NPK) con los promedios de productividad de grano. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 5. Gráfico de interacción entre los factores Abono verde \times Carbendazim (a) y Abono verde

× NPK (b), con los promedios de concentración de nitrógeno en grano. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); Carbendazim (sin y con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 6. Gráfico de interacción entre los factores Abono Verde × NPK, con los promedios de concentración de NO_3^- en el suelo. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 7. Gráfico de interacción entre factores (Carbendazim × NPK) con los promedios de la colonización de vesículas de HMA en el maíz en la fase R1. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 8. Gráfico de la respuesta del crecimiento de micorrizas sin Carbendazim (MGR) con los promedios de peso seco de mazorca (a) y peso seco total de maíz (b). Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Figura 9. Respuesta de fósforo a la micorriza (MPR) de [N] en la fase Vt (a), respuesta de nitrógeno a la micorriza sin Carbendazim (MNR) en contenido de Nt en fase Sns (b) y respuesta de fósforo de micorriza sin Carbendazim (MPR) en contenido de Pt en fase Sns (c). Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos

según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO 2

Tabla 1. Valores p de las variables en la ANOVA de dos vías con los diferentes factores. Valor- p^* ($\alpha = 0.05$).

CAPÍTULO 3

Table 1. p values of all variables measured from three-way ANOVA of the factors A (Green manure), B (Soil physical disturbance) and C (NPK) and their factor combinations ($n=5$).

CAPÍTULO 4

Tabla 1. Valores p de las variables en la ANOVA de tres vías. Valor- p^* ($\alpha = 0.05$).

CAPÍTULO 5

Table 1. Table 1. p values of all variables measured from three-way ANOVA of the factors A (Green manure), B (Carbendazim) and C (NPK) and their factor combinations ($n=5$).

Table 2. Mean values of all the variables measured during the experiment in the different treatments. Factors: Green manures (Without Green manure, Green manure Not incorporated and Green manure Incorporated); AMF control with Carbendazim (With Carbendazim and without

Carbendazim); and mineral fertilization (Without NPK and with NPK).

Table 3. Mycorrhizal growth response (MGR), mycorrhizal nitrogen response (MNR) and mycorrhizal phosphorous response (MPR) values in the different treatments. Factors: Green manures (Without Green manure, Green manure Not incorporated and Green manure incorporated); and mineral fertilization with NPK (Without NPK and with NPK).

Table 4. Correlations between variables of AMF colonization and micorrizal growht response (MGR) of cob, stover and total weight: micorrhizal nitrogen response (MNR); and micorrhizal phosporous response (MPR) in R1 phase

Table 5. Correlations between variables of AMF colonization and micorrizal growht response (MGR) of cob, stover and total weight: micorrhizal nirtrogen response (MNR); and micorrhizal phosporous response (MPR) in R1 phase.

RESUMEN

La materia orgánica es una de las propiedades más importantes de los suelos y la incorporación de abonos verdes producidos por leguminosas, como el janamargo (*Vicia sativa* L.), representa una importante fuente de N y P orgánico en el suelo de los agroecosistemas, además de promover la actividad microbiológica del suelo. Las prácticas intensivas de labranza y fertilización en los agroecosistemas pueden modificar a la comunidad de la microbiota edáfica, reduciendo los beneficios que proporcionan para el cultivo. Estas prácticas impactan en el desempeño de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y en los beneficios que estos proporcionan a la planta hospedera. Acorde a reestablecer las sinergias y aprovechar los servicios de los microorganismos que interactúan con el cultivo, es necesario implementar prácticas agrícolas de conservación complementarias.

En esta investigación se evaluaron los efectos de la labranza, la incorporación de materia orgánica en el suelo con janamargo como abono verde y la fertilización en el crecimiento del maíz, en su interacción con las poblaciones nativas de HMA y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Se realizaron cuatro experimentos factoriales usando suelos con alta y baja disponibilidad de nutrientes en los que se emularon estas prácticas como factores (incorporación de materia orgánica, disturbio del suelo, fertilización mineral, inhibición de HMA con Carbendazim). En los diferentes experimentos se midieron variables en: el maíz (crecimiento y contenido de N y P en tejido vegetal y grano); en los HMA (colonización, frecuencia de estructuras en la raíz y abundancia en el suelo); en la interacción entre maíz y HMA midiendo la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim; así como en el suelo (disponibilidad de NH_4^+ , NO_3^- y HPO_4^{2-}).

En el experimento del Capítulo 2 se encontró que la incorporación de janamargo como abono verde aumentó la respiración microbiana y la disponibilidad de nutrientes en el suelo, pero

inicialmente hay una inmovilización de éstos nutrientes en la biomasa microbiana encargada de la mineralización. En el experimento del Capítulo 3 se encontró que el disturbio del suelo al incorporar el abono verde y la labranza previa a la siembra del maíz disminuyeron la biomasa de la mazorca y la concentración de N y P en hojas, además redujeron la colonización de las raíces con HMA, así como la disponibilidad de nutrientes. En el experimento del Capítulo 4 se encontró que la rotación de cultivos con janamargo como abono verde no aumentó la abundancia de HMA en el suelo en términos de biomarcador de ácidos grasos 16:1w5 y no tuvieron efectos en la colonización de las raíces por HMA. Finalmente, en el experimento de campo (Capítulo 5) se encontró que la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim fue negativa, pero se pudo modular cuando se usó abono verde con fertilización mineral. En suelos con alta disponibilidad de nutrientes, la respuesta de crecimiento negativa a la micorriza sin Carbendazim se correlacionó con la colonización y frecuencia de vesículas y arbusculos de HMA.

Las conclusiones de este trabajo son que el janamargo como abono verde aportó ampliamente con N y P orgánico para el cultivo de maíz y contribuyó a su crecimiento, además, el disturbio del suelo, como la labranza, alteró la dinámica de nutrientes entre la planta, los HMA y el suelo, probablemente al romper las redes de micelio externo de los HMA y por ende su capacidad de transportar nutrientes del suelo a su planta hospedera. No obstante, la fertilización mineral logró mitigar la respuesta de crecimiento negativa del maíz asociada a una mayor colonización de HMA, y su manejo en esta rotación de cultivos puede potenciar la sinergia de la micorriza con el maíz.

Palabras clave: Rotación de cultivos, cultivos de cobertura, materia orgánica, labranza, fertilización mineral, descomposición, mineralización, reciclaje de nutrientes, hongos micorrízicos arbusculares, respuesta de crecimiento a la micorriza.

ABSTRACT

Organic matter is one of the most important properties in the soils and the incorporation of green manures produced by legumes, such as janamargo (*Vicia sativa* L.), represents an important source of organic N and P in agroecosystems soils, in addition to promote the microbiological activity of the soil. Intensive tillage and fertilization practices in agroecosystems can modify the microbiota soil community, reducing the benefits they provide for the crop. These practices impact the performance of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and the benefits they provide to the host plant. In order to reestablish synergies and take advantage of the services of the microorganisms that interact with the crop, it is necessary to implement complementary agricultural conservation practices.

In this research, the effects of tillage, the incorporation of organic matter in the soil with vetch as green manure and fertilization on the growth of maize and on its interaction with the native populations of AMF and on soil nutrient availability were evaluated. Four factorial experiments were carried out using soils with high and low availability of nutrients in which these practices were emulated, including them as factors (incorporation of organic matter as green manure, soil disturbance, mineral fertilization, suppression of AMF with Carbendazim). In the different experiments, variables were measured in: maize (growth and content of N and P in plant tissue and grain); in AMF (colonization, frequency of root structures and abundance in the soil); in the interaction between maize and AMF by measuring the mycorrhiza growth response of maize without Carbendazim; as well as in the soil (availability of NH_4^+ , NO_3^- and HPO_4^{2-}).

In the experiment of Chapter 2 it was found that the incorporation of janamargo as green manure increased microbial respiration and nutrients availability in the soil, but initially there is an immobilization of these nutrients in the microbial biomass responsible for mineralization. In the

experiment of Chapter 3, it was found that the soil disturbance by incorporating the green manure and the tillage prior to planting the maize decreased the biomass of the cob and the concentration of N and P in the leaves, in addition to reducing the AMF colonization of the roots, as well as the nutrients availability. In the experiment in Chapter 4, it was found that crop rotation with vetch as green manure did not increase the abundance of AMF in the soil in terms of 16:1w5 fatty acid biomarker and had no effect on AMF root colonization. Finally, in the field experiment (Chapter 5) it was found that the mycorrhizal growth response of maize was negative, but it could be modulated when green manure was used with mineral fertilization. In soils with high nutrient availability, the negative mycorrhizal growth response without Carbendazim was correlated with high AMF colonization and frequency of vesicles and arbuscules.

The conclusions of this work are that incorporation of vetch as a green manure contributed widely with organic N and P for the maize crop and contributed to its growth. In addition, soil disturbance, such as tillage, altered the nutrient dynamics between the plant, AMF and the soil, probably by breaking the AMF external mycelial networks and therefore their ability to transport nutrients from the soil to their host plant. However, mineral fertilization managed to mitigate the negative growth response of maize associated with a higher colonization of AMF, and its management in this crop rotation can enhance the synergy of mycorrhiza with maize.

Keywords: Crop rotation, cover crops, organic matter, tillage, mineral fertilization, decomposition, mineralization, nutrient recycling, arbuscular mycorrhizal fungi, mycorrhizal growth response.

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Panorama de los agroecosistemas actuales

A mediados del siglo XX, a raíz del crecimiento poblacional alrededor de todo el mundo y debido a la creciente demanda de alimentos, se tuvo que innovar mediante soluciones biotecnológicas una respuesta a los problemas de plagas y patógenos que afectan a los cultivos, así como al decrecimiento en la fertilidad de los suelos en los campos agrícolas. En ese sentido, se ha fomentado el uso de pesticidas y diferentes tipos de biocidas para controlar las plagas y enfermedades, y la intensificación en el uso de fertilizantes químicos sintetizados industrialmente. Además, han predominado prácticas como el monocultivo y la mecanización, que, a pesar de ser sistemas sumamente productivos inicialmente, han abandonado los principios ecológicos y han traído consigo numerosos problemas económicos, sociales y ambientales (Conway y Pretty, 1991; Altieri y Nicholls, 2000). La predominancia de estas prácticas tiene varias consecuencias en el suelo, dentro de las que destacan: erosión, pérdida de la fertilidad, salinización y alcalinización, contaminación de mantos acuíferos, reducción de diversidad edáfica, resistencia genética a plagas y eliminación de los mecanismos de control natural de las mismas (Altieri, 1992; Gliessman, 1998; Magdoff y Van Es, 2000). Para sostener una alta productividad en estos agroecosistemas es necesario un gran gasto energético en fertilizantes, los cuales son ecológicamente insostenibles y su eficiencia en los cultivos es decreciente lo que provoca que la cantidad de energía invertida sobrepase a la energía cosechada (Altieri y Rosset, 1995).

Cuando un agroecosistema presenta una estructura integrada entre sus componentes (suelo, planta, microorganismos, animales y otras plantas presentes) y tiene un equilibrio en el balance de las interacciones entre ellos, generalmente se ven favorecidas algunas funciones ecológicas y se presenta sinergia en sus interacciones (Gliessman, 1998). Éste tipo de agroecosistemas proveen

múltiples servicios ecosistémicos (SE) en diferente medida durante periodos particulares, incluyendo: servicios de regulación (control de la erosión, el control biológico) (Lundgren y Fergen, 2011; Ryan *et al.*, 2011); de soporte (el reciclaje de nutrientes) (Tonitto *et al.*, 2006; Schipanski y Drinkwater, 2011); y de aprovisionamiento (productividad en los cultivos) (Schipanski *et al.*, 2014). Para reducir el uso de fertilizantes sintéticos es necesario un cambio en el manejo de los agroecosistemas para lograr el aporte necesario de nutrientes. Un agroecosistema con fertilización orgánica generalmente mantiene la biodiversidad microbológica necesaria para promover los procesos de renovación y SE del mismo (Gliessman, 1998). El adecuado funcionamiento del agroecosistema depende del nivel de complejidad en la interacción de sus componentes, la cual está ligada con las sinergias entre la fitodiversidad y el funcionamiento de la comunidad microbiana en el suelo (Altieri y Nicholls, 2006). Suelos con alto contenido de materia orgánica frecuentemente presentan una actividad microbológica alta y cadenas tróficas complejas, así como una mayor fertilidad y resistencia de enfermedades y plagas (Altieri y Nicholls, 2006). Sin embargo, el tipo de interacción entre los microorganismos y las plantas depende del equilibrio entre los factores bióticos y abióticos del suelo, por lo que es necesario buscar potencializar la expresión de sus beneficios (Bethlenfalvay, 1991).

1.1.1 Efectos de las prácticas agrícolas en la fertilidad del suelo

El suelo es una parte integral del agroecosistema, es biológicamente activo y la microbiota responde de forma distinta a las prácticas implementadas que afectan la fertilidad del suelo. La fertilidad del suelo es una función del mismo puede ser definida como la capacidad del suelo para suministrar a las plantas y microorganismos agua y nutrientes esenciales para su crecimiento y desarrollo. Las propiedades que determinan la fertilidad del suelo se pueden clasificar en tres tipos:

físicas, químicas y biológicas. Las propiedades físicas condicionan el desarrollo del sistema radical y su aporte hídrico al mismo, tales como la textura, estructura, porosidad, aireación, capacidad de retención hídrica, estabilidad de agregados; las propiedades químicas se relacionan a la reserva de nutrientes y concentración en diferentes fracciones químicas de macro nutrientes (N, P, K, Ca, Mg, S) y micronutrientes (B, Fe, Mo, Mn, Zn, Cu, Na y Cl), así como la capacidad de intercambio catiónico, pH, y contenido de materia orgánica; las propiedades biológicas están determinadas por la actividad de los microorganismos del suelo. Gran parte de la microbiota del suelo utiliza la materia orgánica como sustrato y fuente de energía para la producción de enzimas que producen transformaciones biológicas de las diferentes fracciones de los nutrientes, fomentando procesos de humificación y mineralización. La materia orgánica es un factor clave en la fertilidad del suelo, ya que actúa sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo que mantiene la actividad microbiana de la rizosfera, lo cual es sumamente importante ya que la mayoría de las interacciones biológicas en el suelo se llevan a cabo principalmente en la rizosfera (Andrades y Martínez 2014).

1.1.2 Efectos de las prácticas agrícolas en la rizosfera y su relevancia en los agroecosistemas

La rizosfera es la zona inmediata a las raíces, es una zona dinámica del suelo de interacción entre las plantas y los microorganismos del mismo. Se considera a la rizosfera como un punto caliente de biodiversidad en donde la raíz exuda compuestos que interactúan con los microorganismos y donde se regula la densidad de las poblaciones y sus actividades (Raaijmakers, 2009; Cano, 2011). En la rizosfera se da cabida a organismos benéficos y patógenos, donde su interacción generalmente tiene un efecto neutral para la planta, sin embargo, forma parte de una compleja red de interacciones tanto sinérgicas como antagónicas (Raaijmakers, 2009). El balance de las interacciones entre microorganismos patógenos y benéficos tiene influencia en el crecimiento y desarrollo vegetal, por

lo que el manejo de los factores bióticos y abióticos en el suelo tiene un papel importante en la actividad de los microorganismos benéficos y en el control de la densidad y actividad de los patógenos (Lynch, 1990; Janvier *et al.*, 2007; Cano, 2011). Diversos estudios han mostrado que una de las prácticas agrícolas que más afectan a la interacción entre los microorganismos de la rizosfera, es la labranza (Kurlle y Pflieger, 1994; Schalamuk *et al.* 2006; Larsen et al., 2015). Dentro de los microorganismos benéficos afectados en la rizosfera se encuentran las bacterias fijadoras de nitrógeno, bacterias promotoras del crecimiento vegetal y los hongos micorrízicos (Alexopoulos *et al.*, 1996; Cano, 2011), los cuales juegan un papel muy importante, ya que regulan algunos de los SE que proporcionan estos ambientes, tales como, la productividad de los cultivos; la regulación del ciclo de C, N y P en el suelo (Lemanceau *et al.*, 2015; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016); y en la reducción de GEI (Finn *et al.* 2017).

1.1.3 Sistemas diversificados para mejorar el funcionamiento de los agroecosistemas

Una alternativa para promover el buen funcionamiento de la rizosfera, es la implementación de agroecosistemas diversificados, los cuales, pueden compensar algunos de los SE afectados por los agrosistemas convencionales. La diversificación de los agroecosistemas se debe de llevar acabo a diferentes escalas: a escalas regionales con una zonificación de climas y cuencas hidrológicas para determinar la aptitud de los cultivos en cada región; a escalas temporales con rotación de cultivos, cultivos intercalados o en relevo; a escalas espaciales con multicultivos, agrosilvicultura o sistemas agropastoriles para la producción de ganado; a escalas genéticas con variedades genéticas con resistencia a los cambios ambientales y con capacidad de responder favorablemente a estos cambios. Además debe promoverse una diversidad funcional entre los componentes del cultivo. No obstante, para que haya una buena gestión de los servicios ecosistémicos que proporcionan los

agroecosistemas, es necesario una mayor comprensión de las dinámicas temporales en las que funcionan con su contexto ambiental particular.

1.2 Diversificación de cultivos con Abonos Verdes (AV)

Los abonos verdes (AV) son las plantas de un cultivo de rotación que, previo al momento de floración, se incorporan al suelo entre dos cultivos. Los AV normalmente son usados incorporando su materia orgánica en el suelo antes del cultivo principal y se dejan un tiempo para promover su descomposición y liberar los nutrientes contenidos en el suelo y hacerlos disponibles para el cultivo principal; no obstante, también se pueden sólo cortar y dejar sobre el suelo para evitar disturbio en el suelo manteniendo intacto el sistema radical (Cherr et al., 2006). No obstante, su uso se puede hacer en asociación o intercalado con el cultivo principal. La implementación de AV puede ser sólo con una especie o con una la mezcla de familias como fabáceas, gramíneas y crucíferas con diferentes funciones.

Para la implementación de AV se requiere de diferentes tipos de manejo en la labranza que va de un gradiente de labranza convencional a una labranza mínima. Mientras los AV que se incorporan en el suelo representan un nivel de labranza convencional, los AV no incorporados en el suelo representan un nivel de labranza de mínima. La función de ambos es complementar la nutrición de los cultivos a través de la fijación de N (en caso de las leguminosas) o hacer disponibles nutrientes como el P, K, Ca, Mg (Guzmán y Alonso, 2008) contenidos en su material orgánico. También mejoran la estructura del suelo, aumentan la cantidad de materia orgánica y la actividad microbiana, pueden influir en la reproducción de microorganismos que secretan hormonas y enzimas que estimulan el crecimiento vegetal, controlan la erosión, así como la proliferación de

arvenses y plagas, ya que también pueden albergar depredadores de plagas (Altieri, 1992; Bunch, 2004; Guanche, 2012). En suma, se ha mostrado que los AV pueden reducir la cantidad de insumos externos que se usan para incrementar la fertilidad del suelo y la supresión de plantas arvenses, tales como fertilizantes minerales y pesticidas (Robacer *et al.* 2016).

1.2.1 Efectos de los AV en el suelo

Los efectos de la implementación a largo plazo de los AV generalmente se reflejan en una mejor estructura del suelo y una mayor capacidad de retención de agua y fertilidad del suelo. Sin embargo, los efectos de los AV no siempre son los mismos e incluso pueden no tener efectos benéficos para el buen funcionamiento del agrosistema, ya que la descomposición de su materia orgánica y la subsecuente liberación de nutrientes depende de las propiedades bioquímicas del suelo (actividad microbiológica) (Myers *et al.*, 1994).

1.2.1.1 Efectos en las propiedades físicas del suelo

La materia orgánica incorporada por los AV mejora las propiedades físicas del suelo, sobre todo su estructura y su capacidad de retención del agua. Dentro de los efectos en la estructura del suelo está la reducción en la pérdida de suelo por erosión y el aumento en la estabilidad de los agregados, ya que la raíz de los AV los protege de la compactación y ruptura durante el barbecho disminuyendo su friabilidad (Hermawan y Bomke, 1997). También se ha demostrado que al evitar la compactación del suelo hay una disminución de la resistencia en la superficie del suelo que se crea con las costras que son formadas por el impacto de la lluvia (Folorunso *et al.*, 1992). Así mismo, sus efectos también se notan en la porosidad del suelo, ya que aumentan la permeabilidad al aire,

la conductividad hidráulica, y la capacidad de retención del agua (Thorup-Kristensen *et al.*, 2003). Todo esto favorece el desarrollo radical y el establecimiento de las plántulas (Meyer *et al.*, 1999).

1.2.1.2 Efectos en la fertilidad del suelo

Las especies de leguminosas usadas como AV pueden proporcionar suficiente N y reemplazar el nitrógeno mineral usado en la producción convencional (Badgley *et al.*, 2007; Gselman y Kramberger, 2008). Perdigão *et al.* (2010) concluyeron con base en experimentos de campo y usando diferentes mezclas de AV, que las leguminosas anuales tienen un alto potencial como fuente de N para los cultivos. Los efectos acumulativos de los AV en la disponibilidad de N después de 4 a 7 años usando una rotación de cultivos con AV, podrían proporcionar el suministro de N para el cultivo (Gabriel *et al.*, 2016; Pandey *et al.*, 2017). Es importante considerar que los primeros años hay una disyuntiva entre el suministro de N y la inmovilización microbiana de los nutrientes ocupados por los microorganismos durante la descomposición de la materia orgánica, sin embargo, este compromiso puede ser reducido dependiendo del tipo de mezcla de AV que se use y de factores climáticos de temperatura y humedad en el suelo (White *et al.*, 2016).

La limitación de nitrógeno se convierte en el mayor problema para la producción de cultivos orgánicos que no tienen un almacén disponible de nitrógeno (Thorup-Kristensen, 1999). Sin embargo, a pesar de que la fertilización mineral proporciona una cantidad alta de N en el suelo, los cultivos sólo absorben entre una tercera parte y la mitad del nitrógeno suministrado (Tilman, 1998). La implementación de rotación de cultivos con AV puede aumentar el reciclaje del N lixiviado en las capas más profundas del suelo (a más de 10 kg/ha), debido a la penetración de las raíces en el suelo (Thorup-Kristensen *et al.*, 2012). La lixiviación de nitrógeno es un proceso que reduce a la

fertilidad del suelo, genera la contaminación de cuerpos de agua y es común en los sistemas de agricultura convencional. En ese sentido, se ha mostrado que los AV pueden estabilizar y detener la lixiviación de N y sus efectos dependen del tipo de AV y de la capacidad de adquisición del N del cultivo principal (De Notaris *et al.*, 2018).

El aumento en la disponibilidad de P usando AV depende del tipo de la planta usada. Algunas especies de raíces largas tienen una alta capacidad de absorción de P inorgánico en el suelo convirtiéndolo en P orgánico (Gahoonia y Nielsen, 1997; Gahoonia *et al.*, 2000). La mayoría de las leguminosas exudan ácidos orgánicos que acidifican la solución del suelo y aumentan la disponibilidad de P (Jones, 1998), así mismo, tienen una alta afinidad a la colonización de HMA. Otra forma en la que los AV contribuyen en la disponibilidad de P es en el momento de la descomposición de la materia orgánica, donde por medio de los ácidos orgánicos y enzimas producidas por los microorganismos para descomponer la materia orgánica, el P es solubilizado y mineralizado, además en suelos con pH neutro y alcalinos se libera P ocluido en del suelo de manera homogénea (Wang y Bakken, 1997).

Respecto a otros nutrientes también se ha visto un aumento en su disponibilidad, tal es el caso del potasio (K). La liberación del K en la solución del suelo es relativamente rápida después de la incorporación del AV en el suelo y su disponibilidad es equivalente al K mineral en los fertilizantes (Lupwayi y Haque, 1998). Por otro lado, también se ha visto que el uso de AV reduce la lixiviación de otros nutrientes como el K, Ca y Mg. Sin embargo, hay estudios que han demostrado que los AV ayudan a la retención y disponibilidad del azufre (Eriksen y Thorup-Kristensen, 2002).

1.2.1.3 Efectos de los AV en la microbiota edáfica

Los efectos de los AV en la microbiología edáfica son diversos y dependen en gran medida de la cantidad y la composición química de la materia orgánica incorporada. Tras varios años de aplicación de AV se aumenta un 60% de la biomasa microbiana y se incrementa hasta un 90% la actividad de las enzimas que degradan la celulosa (Debosz *et al.*, 1999; Mendes *et al.*, 1999). Una forma para observar los efectos de los AV en la microbiología nativa del suelo es la medición de las actividades enzimáticas. Un ejemplo de indicadores de la actividad microbológica es la actividad de la deshidrogenasa, la cual se ha propuesto que es un indicador general de toda la actividad microbológica, ya que está involucrada tanto en procesos intracelulares hasta procesos de fosforilación oxidativa (Trevors, 1984). Sin embargo, la mayoría de las enzimas del suelo actúan como un catalizador específico de cada reacción y depende de muchos factores externos, bióticos y abióticos como la presencia de inhibidores, tipo de cultivo, así como el manejo del suelo, lo que las hacen más vulnerables a los cambios en el microambiente (Bandick y Dick, 1999). Los efectos de la rotación con AV también se observa en cambios en la diversidad y composición de las poblaciones de HMA (Boswell *et al.*, 1998; Kabir y Koide, 2000).

Sobre los efectos de los AV en la microfauna, son pocos los estudios que han profundizado en el tema. No obstante, se ha demostrado que los AV incrementan hasta cuatro veces la densidad de colémbolos y casi el doble de densidad de ácaros (Axelsen y Kristensen, 2001). Cabe destacar que los efectos de los AV no se limitan a los microorganismos benéficos, sino que también tienen efectos considerables sobre los patógenos y estos efectos dependen del AV usado. Por un lado, se ha visto que puede aumentar el riesgo de infección de nematodos que se pueden propagar en determinadas plantas usadas como AV, y, por otro lado, también pueden ejercer efectos nematocidas, a través de los productos derivados de la descomposición de la materia orgánica

(Abawi y Widmer, 2000). Sin embargo, los mecanismos de estos efectos aún no han sido dilucidados. Por ejemplo, la canola reduce enfermedades de los cereales transmitidas por el suelo en la rotación de cultivos de mono cereales, y su eficacia como un cultivo de barbecho, se debe a los isotiocianatos, un producto de descomposición química de glucosinolatos (Sarwar *et al.*, 1998).

1.2.1.4 Factores que influyen en la descomposición de los AV y liberación de nutrientes

Los efectos de los AV no siempre son los mismos e incluso pueden no tener efectos benéficos para el buen funcionamiento del agroecosistema, ya que la descomposición de su materia orgánica y su subsecuente liberación de nutrientes están influenciados tanto por factores físicos del suelo (humedad, temperatura, textura, recalcitrancia de sus componentes, pH) químicos (Relación C/N; Lignina/L, nutrientes) y biológicos (actividad microbiológica) (Myers *et al.*, 1994). La textura del suelo modula la liberación N a partir de residuos de abono verde, debido a la oclusión física de residuos parcialmente descompuestos dentro de los agregados y la unión de los productos solubles de degradación (por ejemplo, hidratos de carbono y proteínas) en las superficies de arcilla (Six *et al.* 2000). Esto puede influir en los procesos de mineralización de N y nitrificación mediados por microbios. En consecuencia, se espera que los suelos muy arcillosos fertilizados con AV liberaran menos N mineral que aquellos con bajo contenido de arcilla. No obstante, los efectos de los AV en las diferentes propiedades del suelo, en la microbiología y actividad enzimática del suelo, así como en la productividad de los cultivos depende mayormente de la composición bioquímica y de la estequiometría de los componentes principales de cada AV (Tejada *et al.*, 2008).

La relación C/N de los AV es el factor más importante en el balance entre mineralización e inmovilización y es el mejor parámetro que controla la mineralización de la materia orgánica. Por

su parte, la relación lignina/nitrógeno (L/N) es el mayor factor que controla mineralización de N y es el mejor parámetro predictivo del N que potencialmente puede ser mineralizado (Becker *et al.*, 1994). Por lo tanto, la relación C/N de los distintos AV usados, se manifiesta en cambios en la relación C/N en el suelo y en la estequiometría del mismo. Si se quiere que favorezca el reciclaje de la materia orgánica y que los AV funcionen como complemento de los nutrientes en el suelo, la aplicación de cada variedad de AV debe estar relacionada con la estequiometría química del suelo, del AV y del cultivo principal.

1.2.2 Usos de los Abonos Verdes

Son varios los usos de los AV y generalmente su aplicación no se reduce a una sola utilidad, ya que cumplen varias funciones. No obstante, las condiciones del agrosistema, tales como el estado de fertilidad del suelo, el grado de lixiviación o erosión del suelo, el equilibrio microbiológico en el suelo, la existencia de plagas, estrés hídrico o la presencia de ganado en la granja, son condiciones que determinan el tipo de AV que debe ser usado.

1.2.2.1 AV como fertilizantes

La función principal de los AV es complementar la nutrición del suelo para los cultivos de rotación. Son diferentes los nutrientes que pueden ser incorporados en el agrosistema, principalmente el N, gracias a la fijación de nitrógeno libre por bacterias del género *Rhizobium*. Por su parte, solubilización del P es fomentada por la presencia y colonización de las raíces de los HMA y sus microorganismos asociados. Así mismo, se aumenta la disponibilidad de otros micronutrientes debido a que evita la pérdida de los mismos por los procesos de erosión y lixiviación. Además, los

AV con sistema radical muy desarrollado, bombean los nutrientes de capas inferiores del suelo hacia las capas superiores.

1.2.2.2 AV como reactivador de la microbiología edáfica

El uso excesivo de plaguicidas y biocidas en general, lleva a una pérdida de la diversidad microbiológica que conlleva a un aumento de la susceptibilidad al ataque de plagas u hongos patógenos. El uso e incorporación de la materia orgánica de los AV incrementa considerablemente la microbiología nativa y mantiene un balance en la dinámica poblacional entre microorganismos microorganismos benéficos y antagonistas.

1.2.2.3 AV como control biológico

Otro de los usos que recientemente han tomado fuerza, es el control de arvenses, ya que pueden regular la propagación y crecimiento estas plantas, compitiendo con ellas por los recursos o secretando metabolitos secundarios con propiedades alelopáticas por las raíces o liberar compuestos fenólicos durante su descomposición. Otra técnica que se ha usado para disminuir la propagación de arvenses es incorporándolas como AV antes de su periodo de floración y así evitar la formación de semillas y cortar su ciclo de vida. Sin embargo, hay que estar muy pendiente debido a que las plantas arvenses suelen tener una floración escalonada. Así mismo, algunas plantas brassicaceas, como la canola, se usan como control de la propagación de hongos fitopatógenos en el suelo a través de la producción de isocianatos en las raíces, compuestos que inhiben el crecimiento de hongos.

1.2.2.4 AV como forraje

Los AV mejoran las propiedades del suelo, no obstante, muchos campesinos utilizan el forraje de la parte aérea de los AV que no se incorporan en el suelo para la alimentación del ganado y en el suelo donde creció el AV, con o sin labranza previa, siembran el siguiente cultivo.

1.2.3 Servicios Ecosistémicos en agrosistemas diversificados con AV

La diversificación y rotación de cultivos con AV provee múltiples SE en diferente medida durante periodos particulares, incluyendo: servicios de regulación (control de la erosión, el control biológico) (Lundgren y Fergen, 2011; Ryan *et al.*, 2011); de soporte (el reciclaje de nutrientes) (Tonitto *et al.*, 2006; Schipanski y Drinkwater, 2011); y de aprovisionamiento (productividad en los cultivos) (Schipanski *et al.*, 2014).

Dentro del mejoramiento de los SE de regulación, está el control de la erosión y la lixiviación de nitrógeno que contamina cuerpos de agua y el aire (Lal, 2010). Sin embargo, el SE relacionado al suministro de N es más complejo, por ejemplo, al usar leguminosas como AV, se promueve la fijación y mineralización del nitrógeno y, por tanto, su disponibilidad en el suelo, lo cual puede reducir el uso de fertilizantes químicos y las emisiones de carbono asociadas a su producción. Otro servicio de soporte que se ve beneficiado en estos sistemas, es el control de plagas, ya que los residuos acumulados de algunos AV y sus compuestos alelopáticos exudados, inhiben la germinación y el crecimiento de las plantas arvenses, disminuyendo la necesidad del uso de herbicidas y la emisión de carbono que representa su producción. También, al afectar diferencialmente la disponibilidad de N, las plantas muy eficientes en la absorción de N presentan una ventaja contra las plantas arvenses (Wells *et al.*, 2010).

Uno de los SE que más se ven potenciados en los agrosistemas diversificados con AV, es el aumento de la colonización de las raíces por hongos micorrízicos arbusculares (HMA), la cual representa una medida integrada de un servicio de soporte, ya que los HMA juegan un papel importante en la adquisición de fósforo y pueden incrementar la absorción de nitrógeno y el zinc, así como, el control de plagas por la competencia en la colonización de las raíces y la tolerancia al estrés hídrico (Smith y Read, 2008; Vannette y Hunter, 2009). Además, los HMA pueden tener un efecto estabilizador en el suelo incrementando la formación de los agregados (Wilson *et al.*, 2009). Se ha sugerido que los HMA pueden ser muy importantes en el secuestro de C en el suelo, mitigando las emisiones de CO₂ en suelos agrícolas, ya que, una buena parte de los fotosintatos de la planta huésped se invierte en el crecimiento de los HMA (Solaiman, 2014). Las plantas micorrizadas pueden aumentar el flujo de fotosintatos de 4% a un 20% a las raíces (Douds *et al.*, 2000). Bago *et al.* (2000), estiman que la simbiosis de los HMA puede representar un flujo de C alrededor del mundo de hasta 5000 millones toneladas al año. Además, se sugiere que los HMA tienen un papel importante en los ciclos globales de N y P, gracias a que son los hongos más abundantes en el mundo y su composición química es alta en contenido de N, (Govindarajulu *et al.*, 2005; Hodge *et al.*, 2010).

1.3 Efectos de las prácticas agrícolas y la diversificación de cultivos con AV en los HMA y microorganismos asociados

Ryan y Graham (2018) reportan que las presiones de selección más citadas e investigadas que pueden reducir la diversidad de hongos micorrízicos y su funcionalidad en los agroecosistemas son la labranza, la fertilización masiva, la ausencia de rotaciones con heces, y una baja diversidad de

plantas. Los cambios en la composición de la comunidad fúngica micorrícica y la diversidad genética se han documentado repetidamente cuando se comparan los sistemas de labranza de alta intensidad con sistemas de labranza de conservación o baja intensidad, donde se presenta mayor diversidad en este último sistema de labranza (Miller *et al.*, 1995; Boddington y Dodd, 2000; Jansa *et al.*, 2002; Alguacil *et al.*, 2014). Los rasgos funcionales de HMA se conservan filogenéticamente (Powell *et al.* 2009), por lo tanto, la disminución de la diversidad de HMA probablemente resulte en la pérdida o reducción de las funciones biológicas (Williams *et al.* 2017). Éstos cambios en las funciones de los HMA, puede llevar a cambios en el continuo de la simbiosis planta-HMA hacia un mutualismo reducido o parasitismo (Verbruggen y Kiers 2010).

Los cultivos intercalados tienen un fuerte impacto positivo sobre el desarrollo de micorrizas y las funciones microbianas del suelo, las cuales están estrechamente relacionadas a un mayor desarrollo de la planta, una mejor nutrición mineral y con la mejora de la productividad (Oehl *et al.*, 2010; Wahbi *et al.*, 2016). El intercalado de maíz con leguminosas aumenta la microbiota del suelo y aumenta la disponibilidad de N y P en el suelo al aumentar la actividad de la ureasa y la fosfomonoesterasa, lo que aumenta la cantidad de clorofila y microorganismos en las plantas de maíz (Latati *et al.* 2016; Lin *et al.*, 2018). Por lo tanto, un uso rentable de los HMA en el contexto agroecológico requiere de una combinación adecuada de la planta hospedadora, el socio fúngico y prácticas de gestión agrícola agroecológicas en la labranza y rotación de cultivos (Smith *et al.*, 2004; Sawers *et al.* 2008).

Otros microorganismos interactúan en sinergia con los HMA, como las bacterias promotoras del crecimiento vegetal, que pueden tener diversas funciones como la fijación de nitrógeno (por las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico (BFN), la solubilización del P, la producción de factores de crecimiento como el ácido indolacético, sideróforos, y antibióticos

(Barea *et al.*, 2002; Xavier y Germida, 2003; Bharadwaj *et al.*, 2008). Así como amplia gama de bacterias, actinomicetos, hongos filamentosos y levaduras que solubilizan P mineral, y mineralizan al P orgánico (Sharma *et al.*, 2013). En una comunidad microbiana con estos microorganismos, es donde los HMA pueden jugar un papel importante en el secuestro de P de la solución del suelo, donde se favorece la producción de gránulos de polifosfato de las estructuras fúngicas, proporcionando el almacén para el intercambio de P y C entre el hongo y la planta (Larsen *et al.*, 2015). Además, se ha demostrado que los HMA reclutan bacterias solubilizadoras de Pi (*Bacillus* spp., *Sinorhizobium meliloti* y *Streptomyces* spp), mismas que segregan quelantes de ácidos orgánicos para la movilización de Pi a partir de sales y/o fosfatasas poco solubles para la mineralización de Po (Ordoñez *et al.*, 2016; Zhang *et al.*, 2016; Battini *et al.*, 2017). En ese sentido, Battini *et al.* (2017) con la inoculación con *Streptomyces* spp, observaron una relación positiva entre la absorción de P mediada por AMF y el contenido de P en los brotes, produciendo mayor consumo y translocación de P, así como un aumento en el crecimiento de las hifas de los HMA. Este reclutamiento bacteriano se puede deber a que el micelio extraradical (MER) puede exudar o secretar parte de su C, lo que estimularía el crecimiento bacteriano de manera similar al efecto de la rizosfera (Ravnskov *et al.*, 1999).

1.3.1 Importancia de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rizosfera

Los HMA se encuentran en todos los agroecosistemas y son briótrofos obligados que colonizan las raíces de las plantas, obteniendo azúcares a cambio de nutrientes minerales que pueden ser absorbidos y translocados a través de una extensa red de hifas del micelio extraradical (MER) que se extiende desde las raíces colonizadas hacia el suelo (Smith y Read, 2008). Los HMA pueden funcionar como sistemas de absorción auxiliares que transfieren desde el suelo hacia la planta,

nutrientes como son el P, N, S, K, Ca, Fe, Cu, y Zn (García y Zimmermann, 2014; Lehmann y Rillig, 2015; Di Martino *et al.*, 2018). Jakobsen *et al.* (1992b) demostraron que los HMA pueden transferir el P desde el suelo hacia la planta hospedera hasta a 12 cm de las raíces. Sin embargo, no siempre hay un beneficio neto para la planta en la captación de P (Jansa *et al.*, 2005), incluso en algunas plantas como el tomate, pepino o la cebada se han visto respuestas negativas a la colonización de HMA (Pearson y Jakobsen, 1993; Smith *et al.*, 2003). Esto se puede deber a dos razones: o la superficie de la raíz disponible para la captación de P fue menor que en las plantas de no micorrizadas, o la densidad y / o actividad de los transportadores de P responsables de la captación de P a través de la raíz fue menor (Jansa *et al.*, 2005). Además, los HMA disminuyen la infección de los patógenos, estimulan el crecimiento vegetal, aumentan la tolerancia al estrés hídrico en el suelo y contribuyen a mejorar la estructura del suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992; Smith y Read, 2008; Barrer, 2009). Un ejemplo de eso es el género *Rhizophagous*, cuyos miembros se han catalogado como agentes de control biológico y de tolerancia al estrés hídrico, sin embargo, si existe una descompensación entre los factores bióticos y abióticos, se afectan las interacciones sinérgicas y puede haber cambios tanto en los efectos benéficos como antagónicos o ningún efecto en el crecimiento y desarrollo de las plantas (Cano, 2011). Además, las prácticas agrícolas convencionales afectan negativamente a las poblaciones de HMA, así como a la composición de especies y la colonización de HMA (Kurlle y Pflieger, 1994; Schalamuk *et al.* 2006).

Los HMA y las bacterias nitrificantes representan grupos microbianos clave que regulan el ciclo N, C y P en los ecosistemas terrestres (Smith y Read 2008; Jakobsen *et al.*, 2001). Ambos utilizan reservas de N del suelo, ya sea en NH_4^+ por los HMA o a través de la nitrificación autótrofa, mediante la oxidación del amonio a nitrato altamente móvil por las bacterias nitrificantes (competidores débiles para acceder al NH_4) (Veresoglou *et al.*, 2011). Además, un aumento en la

diversidad de los HMA, conlleva a un aumento de la diversidad vegetal que permite un uso más eficiente de los recursos en el suelo mejorando la disponibilidad de P, teniendo como resultado, un aumento en la productividad de los agrosistemas (Njeru *et al.*, 2017). Dentro de toda la biodiversidad microbiana del suelo, se puede decir que las BFN y los HMA juegan el papel más importante en el mantenimiento de los SE de los agrosistemas (Van der Heijden *et al.*, 1998).

1.3.2 Flujo de nutrientes (C, N y P) entre el fotobionte (planta) y el micobionte (HMA)

La rizosfera es la zona crítica para la dinámica de P, N y C, ya que aquí se producen la mayoría de los procesos biológicos y ecológicos complejos (Bais *et al.*, 2006). En esta zona, las raíces de las plantas son capaces de modificar su entorno a través de actividades fisiológicas por medio de exudaciones de aniones de ácidos orgánicos, enzimas, metabolitos secundarios y azúcares (Giles *et al.*, 2017). Estos procesos, además de determinar la solubilización, mineralización, adquisición de nutrientes y la dinámica microbiana, controlan la eficiencia en adquisición de P (Hinsinger *et al.*, 2009). La adquisición de P es una de las principales limitantes para la productividad en los cultivos debido a que el P es el macronutriente con menor disponibilidad en el suelo el mundo y sólo el 1% del P en los agrosistemas está disponible para las plantas (Karandashov y Bucher, 2005). Además, existe una eficiencia muy baja en fertilización con P, ya que sólo una parte del P aplicado se absorbe por las raíces (Holford, 1997). En ese sentido, la fisiología de la raíz y las respuestas bioquímicas desempeñan un papel muy importante para el acceso a los escasos almacenes de P en el suelo. Por lo tanto, la exudación de ácidos orgánicos, de protones, secreción de fosfatasas y la asociación con microorganismos simbióticos y no simbióticos presentes en la rizosfera son una de las mayores adaptaciones de las plantas a esta limitante de P (Campos *et al.*, 2018).

Entre los microorganismos que pueden ayudar en esta adquisición del P para la planta, son los HMA. No obstante, las plantas pueden modular la simbiosis, estimulando la actividad metabólica fúngica y la ramificación de las hifas entre otros efectos (Bücking y Shachar-Hill, 2005). La respuesta de la planta ante la micorrización tiene un amplio gradiente que puede ir desde negativa hasta positiva dependiendo de las especies del fotobionte y del micobionte, y las condiciones ambientales (Klironomos, 2003), siendo las del maíz las mejores respuestas a la micorrización respecto a otros cereales (Karasawa *et al.*, 2001). Los HMA representan para el fotobionte una importante inversión de C, ya que, entre 3% y 20% de fotosintato puede asignarse a micobionte (Jakobsen y Rosendahl, 1990). A cambio, los HMA pueden promover el crecimiento de la planta hasta un 80% bajo condiciones ambientales sin fertilización mineral (Treseder *et al.*, 2018). Los efectos negativos después de la colonización de HMA se atribuyen a un exceso de fotosintatos compartidos con la pareja fúngica (Li *et al.*, 2005; Morgan *et al.*, 2005). El flujo de nutrientes entre el fotobionte y el micobionte se explica a continuación.

Transferencia de C. La transferencia de C entre el fotobionte y el micobionte se da en el micelio intraradical (MIR), donde el micobionte puede absorber y usar las hexosas secretadas por la raíz (Solaiman y Saito, 1997; Bago *et al.*, 2002). Esta absorción del C se lleva a cabo en la interfaz interarbuscular, mediante difusión pasiva en un gradiente de concentración y las hexosas son rápidamente convertidas a trihalosa y glucógeno, que son translocados al MER, donde se lleva a cabo la acumulación de fosfolípidos de almacenamiento para la formación de la pared celular y la formación de esporas (Shachar-Hill *et al.*, 1995; Bago *et al.* 2000; Bago *et al.*, 2002). En esta translocación de C probablemente estén involucrados elementos del citoesqueleto (Bago *et al.*, 2002), y se ha demostrado que esta circulación de C es en forma de lípidos y no de carbohidratos (Bago *et al.*, 2003). Esta estrategia, se lleva a cabo convirtiendo las hexosas en lípidos dentro del

micelio intraradical (MIR) para translocación al MER, donde se reconvierten a carbohidratos estructurales (pared celular de quitina) y de almacenamiento. En este proceso se pierde cerca de la mitad del C en estos elementos y el restante retorna al micelio intraradical (MIR) en forma de arginina (Bago *et al.*, 2003).

Transferencia de Nitrógeno. El N se absorbe en los HMA en el MER en forma de NH_4 , ya que su absorción es menos costosa energéticamente para el hongo, pero, a pesar de que el NO_3 primero tiene que reducirse a NH_4 antes de la incorporación a los aminoácidos, por su abundancia, el NO_3 es la mayor fuente de N absorbido por el MER (Hodge *et al.*, 2010), y se reduce a NH_4 dentro de las células fúngicas y se incorpora a los aminoácidos a través de la vía de la Glutamina sintetasa y la Glutamina-2-oxoglutamato amino transferasa (Johansen *et al.*, 1996). La glutamina se metaboliza rápidamente en el MER en arginina (Govindarajulu *et al.*, 2005; Di Martino *et al.*, 2018). La translocación de N se lleva a cabo mediante la recirculación de arginina del MER al MIR, específicamente en los arbusculos (Govindarajulu *et al.*, 2005; Di Martino *et al.*, 2018), donde se hidroliza por la arginasa y la ureasa (Govindarajulu *et al.*, 2005) y se libera el NH_4 a la interfaz interarbuscular y a las células corticales de la raíz donde se convierte en glutamato (Govindarajulu *et al.*, 2005; Di Martino *et al.*, 2018), mientras que el esqueleto de C del aminoácido, mediante el ciclo del glioxilato, sirve para poder captar el carbono de las hexosas (Bago *et al.*, 2002; Govindarajulu *et al.* 2005).

Transferencia de Fósforo. En la rizosfera, el Pi generalmente se agota debido a que las tasas de absorción por las raíces superan a las del reemplazo en el suelo, pero los hongos micorrízicos son capaces de acceder al Pi más allá de la zona de agotamiento a través de redes del MER (Jakobsen *et al.*, 1992; Ezawa *et al.* 2018). Además de explotar el Pi libre, mediante el MER pueden explotar los fosfatos orgánicos (Po), a través de la mineralización de Po por sus fosfatasas ácidas

extracelulares (Koide y Kabir, 2000). El P absorbido por el MER es trasladado al MIR en forma de polifosfatos (Karandashov *et al.* 2004; Viereck *et al.*, 2004; Hijikata *et al.*, 2010). Se han detectado flujos de P en las hifas con flujos protoplasmáticos bidireccionales dentro de estructuras celulares (vacuolas, núcleos, gotas de grasa, orgánulos, gránulos) (Logi *et al.*, 1998; Giovannetti *et al.*, 2000).

Los transportadores específicos de P en los hongos son esenciales para la transferencia de P del MER de la membrana arbuscular hacia la célula vegetal (Di Martino *et al.*, 2018). El Pi se capta en el MER a través de simportadores H⁺/Pi y simportadores Na⁺/Pi controlados por ATPasas H⁺ y ATPasas Na⁺, respectivamente, incorporados en ATP en mitocondrias, polimerizados en polifosfato por el complejo chaperón transportador vacuolar (VTC) y acumulado en las vacuolas tubulares (Kikuchi *et al.*, 2014; Johri *et al.*, 2015; Garcia *et al.*, 2016). El polifosfato se transloca hacia el huésped, probablemente por el flujo de agua mediado por una acuaporina fúngica (AQP3) (Nehls y Dietz, 2014; Kikuchi *et al.*, 2016). Durante la translocación a larga distancia, el polifosfato se invierte dinámicamente a través de la despolimerización mediante polifosfatasas y se exporta al citosol a través del exportador de Pi vacuolar (PHO91) (Kikuchi *et al.*, 2014). En el MIR, el polifosfato se transloca a los arbusculos por el flujo de agua mediado por AQP3, y luego el Pi se exporta por tres vías hipotéticas: (1) Pi se libera por hidrólisis del polifosfato, exportándose al citosol a través de Pi vacuolar y se carga a la red de Golgi/trans-Golgi para su exportación al apoplasto; (2) Pi liberado de las vacuolas se exporta directamente a través la membrana plasmática del hongo; (3) el polifosfato se exporta directamente a través del complejo VTC en la membrana plasmática al apoplasto en el que la fosfatasa vegetal hidroliza el polifosfato (Ezawa *et al.*, 2018).

Hodge *et al.* (2010) plantean que este proceso puede representarse como un ciclo con retroalimentación positiva, ya que, cuando un HMA transfiere P o N a través de las membranas

arbusculares, habrá un aumento local en la concentración de fosfato o amonio en la raíz, por lo que la planta, al no poder distinguir entre ese suministro con el que resulta de la captación epidérmica de las células corticales, responderá aumentando el transporte de las hexosas hacia el sitio donde se incrementó la captación de nutrientes y algunas de esas hexosas se filtrarán en el apoplasto y serán adquiridas por las hifas intercelulares para convertidas en trihalosas y continuar con el ciclo.

1.4 Importancia del agroecosistema maíz-leguminosa

Uno de los mejores ejemplos de agroecosistemas que mejor escenifican la importancia de un agrosistema diversificado en asociación de maíz con leguminosas, es la milpa. Ésta es un agroecosistema propio de Mesoamérica que data de tiempos prehispánicos y mantiene su vigencia hasta nuestros días. Es base de la alimentación en gran parte de México, y puede incluir a la planta del maíz con diversas variedades de frijoles (leguminosas), calabazas (cucurbitaceae), quelites (arvenses), y otros cultivos. Este tipo de agroecosistema se encuentra en casi todas las zonas ecológicas, tanto tropicales, subtropicales o templadas, y en cada clima, cambian las razas y variedades de maíz, frijol y calabaza. En una milpa, busca hacer un uso eficiente de la luz, agua y de los nutrientes del suelo, debido a la estructura de los múltiples estratos del multicultivo en donde funcionan principios ecológicos de un ecosistema (Kato *et al.*, 2009). En la milpa, existe diversidad de especies y variedades, que constituyen elementos fundamentales del agroecosistema para las interacciones simbióticas o “cooperativas” entre plantas (Kato *et al.*, 2009). La estructura fisonómica de la milpa está dominada por la caña del maíz, la cual sirve de soporte para que el frijol pueda enredarse y crecer. La mayoría de los frijoles usados en la milpa, crecen intercalados con el maíz en el estrato medio de la milpa, y producen una gran cantidad de nódulos para la fijación

de nitrógeno que puede ser usado inmediatamente por el maíz, por la calabaza u otras plantas asociadas. En el estrato inferior de la milpa, se encuentra la calabaza, la cual funciona como control de arvenses, ya que sus hojas gruesas y anchas, mantienen la humedad del suelo y forman una capa densa que limita la entrada de luz al suelo inhibiendo la germinación de las semillas de arvenses. Además, la calabaza, como otras Cucurbitáceas, secreta compuestos alelopáticos que reducen el crecimiento y establecimiento de las plantas arvenses y ahuyentan a los insectos (Altieri, 1987, 1995; Gliessman, 1990). Este agroecosistema demuestra la importancia de la diversificación de cultivos y asociaciones de maíz con leguminosas y otras plantas y puede funcionar como modelo de los agrosistemas diversificados con el uso de AV leguminosas con el maíz.

1.4.1 Janamargo como AV

El janamargo o veza (*Vicia sativa* L.) es un buen ejemplo de planta utilizada con AV. Es una planta originaria del centro y sur de Europa y del área mediterránea. En la Península Ibérica aparece espontáneamente en casi todo el territorio. Su cultivo se ha extendido a todo el planeta. En el sur de la Península y en las dos mesetas se cultivan variedades de otoño y en las zonas montañosas templadas variedades de primavera. La encontramos en campos, tierra en barbecho, terrenos baldíos, bancos, bordes de caminos, patios, praderas, puertos, patios de vías férreas. También crece entre el forraje y cultivos como abono verde. Esta planta ha sido parte de la dieta humana desde la antigüedad, se han encontrado restos datados en el Neolítico Temprano. Es una leguminosa capaz de fijar nitrógeno mediante abundante producción de nódulos en sus raíces de bacterias del género *Rhizobium*. El aprovechamiento de esta planta en México radica en su uso como abono verde o como forraje ganadero, ya que aporta una cantidad importante de proteína (Goñi *et al.*, 2004).

1.4.2 Maíz como cultivo

El maíz es el cultivo de mayor producción en el mundo; así mismo, es la planta con mayor grado de domesticación (FAO, 2003; Mejía, 2003). A pesar de esto, el origen de su domesticación es incierto, pero se considera que el centro de origen más importante se encuentra en el occidente de México, ya que ahí se han encontrado registros de su cultivo de más de 7000 años de antigüedad (Kato *et al.*, 2009). En México, existen más de 50 razas nativas que le dan al cultivo del maíz una multifuncionalidad y adaptabilidad sin igual, ya que se puede comer en grano, transformarse en harinas, producir productos de almidón, aceites y proteínas, bebidas alcohólicas, fructosa y combustible (Mejía, 2003). Así mismo, esta diversidad se refleja en la prodigiosa diversidad de comportamientos y adaptaciones geográficas de estas variedades (Kato *et al.*, 2009).

En México, el cultivo de maíz ocupa cerca de la mitad de la superficie cultivable, aproximadamente 7.4 millones de hectáreas (Kato *et al.*, 2009), y aproximadamente 57% de la producción nacional se destina al consumo humano y 26% a la alimentación del ganado (Ron *et al.*, 2006). De los espacios dedicados al cultivo de maíz, la mayoría es de economía campesina (UNAM, 2007). Más del 40% de la fuerza de trabajo en el sector agrícola (3 millones de personas) trabajan el cultivo del maíz, por lo que cerca del 8% de la fuerza laboral de México, depende de este cultivo (Nadal y Wise, 2004; SAGARPA, 2008). Estas características le dan una relevancia notable al cultivo del maíz, por lo que es imperativo el estudio de la respuesta de las distintas variedades a las condiciones actuales de los sistemas agrícolas.

1.4.3 Taxonomía y características biológicas del maíz

El género *Zea* pertenece a la familia Poaceae y contiene cinco especies en México y Centroamérica:

Zea diploperennis Iltis, Doebley y Guzmán; *Zea perennis* (Hitchcock) Reeves y Mangelsdorf; *Zea luxurians* (Durieu y Ascherson) Bird; *Zea mays* Linnaeus y la descrita recientemente *Zea nicaraguensis* Iltis y Benz. *Zea mays* L., es la especie a la que corresponde el maíz en la forma cultivada del género (Doebley e Iltis, 1980). El maíz es una planta anual de porte robusto, con tallo simple y erecto (1 – 5 m), con pocos macollos o ramificaciones; presenta hojas alternas que nacen en los nudos a lo largo del tallo; tiene raíces primarias fibrosas y raíces adventicias que nacen en los primeros nudos por encima de la superficie del suelo (Jugenheimer, 1988). En la mazorca cada grano o semilla es un fruto independiente (cariópside), insertado en el raquis cilíndrico u olote; la cantidad de grano producido por mazorca depende del número de granos por hilera y de hileras por mazorca. Las estructuras que constituyen el grano del maíz (pericarpio, endospermo y embrión) le confieren propiedades físicas y químicas (color, textura, tamaño, etc.) que han sido importantes en la selección del grano como alimento (Kato *et al.*, 2009). El maíz se cultiva en una gran variedad de regiones agroecológicas, en suelos y climas muy variables. Crece en altitudes que van entre 0 y 4,000 m s.n.m., se distribuye desde el ecuador hasta altas latitudes, en regiones de precipitación pluvial de 400 mm hasta los 3,000 mm (Reyes, 1990). La mejor producción se logra en climas con temperatura media entre 21 y 27 °C y libre de heladas en el ciclo agrícola entre 120 a 180 días (Reyes, 1990).

1.5 Justificación

Las bondades del uso de las leguminosas como AV sobre otras plantas son contundentes, y en zonas tropicales la mayoría de estas plantas forman la asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno, por lo que su uso se ha incrementado alrededor del mundo. Por otro lado, asociar la producción maíz con leguminosas mediante rotaciones, podría ser una estrategia para incorporar el

N fijado por la leguminosa a través de su asociación simbiótica con bacterias del género *Rhizobium* (Wahbi *et al.*, 2016), y de un mejor uso del P y agua, a través de las asociaciones de micorrizas con las leguminosas usadas como AV que promueven la colonización de HMA en el maíz (Gavito y Miller 1998). La diversificación de cultivos en los agrosistemas usando los AV leguminosos como el janamargo, que tiene una buena calidad química (baja relación C/N y L/N) y una buena asociación con BFN y HMA, puede tener diversos efectos favorables en los SE y en las propiedades del suelo. Al incorporar materia orgánica al suelo, mantienen la estabilidad de muchos procesos ecológicos y fomentan la microbiología edáfica benéfica que promueve su mineralización y la liberación de nitrógeno, aumentando la fertilidad del suelo (Drinkwater *et al.*, 1998).

En este contexto, han surgido las siguientes preguntas para esta investigación: ¿Cómo es la nutrición y rendimiento del maíz cuando la leguminosa *Vicia sativa* L. (janamargo) se usa como abono verde incorporado respecto a su aplicación como abono verde sin incorporar? ¿Qué papel juegan microorganismos como los HMA en la dinámica de nutrientes (N, P y C) en el agroecosistema? ¿El disturbio del suelo tiene efectos sobre el crecimiento y nutrición del maíz, en el desempeño de las poblaciones nativas de HMA o en la disponibilidad de nutrientes en el suelo? ¿Cuáles son los efectos de diferentes manejos de labranza del suelo con el uso de AV en las propiedades bioquímicas del suelo?

1.6 Objetivos

El objetivo general de la tesis fue evaluar los efectos de distintas aplicaciones del janamargo como abono verde en el ciclo agrícola en el crecimiento del maíz, en su interacción con las micorrizas arbusculares nativas y sus efectos en la dinámica de nutrientes en el suelo.

Los objetivos particulares fueron: (1) evaluar los efectos de la fertilización y la incorporación de materia orgánica en el suelo en la respiración microbiana, en la mineralización del janamargo y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo; (2) comparar los efectos del disturbio en el suelo en una rotación de janamargo como AV con maíz en el crecimiento y nutrición (N y P) del maíz, en la formación de micorriza y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo (NO_3^- , NH_4^+ y HPO_4^{2-}); (3) evaluar en invernadero y en prueba de campo los efectos del uso de abonos verdes bajo dos sistemas de labranza (AV incorporado y no incorporado) y fertilización mineral, en la productividad y nutrición del maíz y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo, así como en el desempeño de las micorrizas arbusculares y su interacción con el cultivo.

1.7 Hipótesis

Las hipótesis planteadas fueron: (1) La incorporación de materia orgánica y la fertilización mineral aumenta la actividad microbiológica y la respiración microbiana, lo que afectará la disponibilidad de nutrientes en el suelo; (2) el disturbio físico del suelo reduce el crecimiento y nutrición (N y P) del maíz, afectando su interacción con los HMA; (3) la incorporación de materia orgánica del janamargo como AV y la reducción de labranza favorece la colonización de HMA y la sinergia mutualista de la simbiosis entre los el maíz y los HMA, mientras que la fertilización mineral, el barbecho y la perturbación del suelo afectan el desempeño de la micorriza.

1.8 Modelo hipotético del flujo de nutrientes en el agrosistema de estudio

Modelo hipotético del flujo de nutrientes para el agroecosistema con un sistema de riego constante como el que se propone en esta investigación se muestra en la Figura 1. Al inicio del ciclo (T_0) se

siembra el AV (janamargo). Éste germina y crece, y cuando se acerca a su etapa de floración (tiempo intermedio, T_i), gracias a la actividad biológica de los microorganismos asociados a los HMA en las raíces de janamargo, como bacterias de vida libre o solubilizadoras de P, se habrá aumentado la disponibilidad de P de sus diferentes formas fosfatadas presentes en el suelo. Así mismo, se habrá fijado una cantidad considerable de nitrógeno atmosférico gracias a la asociación del janamargo con bacterias simbióticas del género *Rhizobium* y también a bacterias diazotróficas de vida libre.

Al momento de cosechar del abono verde (T_i), se incorpora su materia orgánica en el suelo donde creció para dejarlo reposar y que se lleve a cabo la descomposición de su biomasa y liberación de nutrientes (Nitrógeno y Fósforo). En este momento (T_i), la mayoría de los nutrientes están en la materia orgánica incorporada como abono verde. Al momento de sembrar el maíz (T₁), se habrá incrementado la actividad microbiológica, por lo que la cantidad de nutrientes disueltos y contenido en los microorganismos será considerablemente mayor, mientras que el contenido de nutrientes en la materia orgánica será menor.

Para el momento de cosechar el maíz (T_F), la mayoría de los nutrientes disueltos habrán sido absorbidos por la planta y su concentración en la solución del suelo será significativamente menor. No obstante, aunque en menor medida, se seguirá llevando a cabo la descomposición de la materia orgánica más recalcitrante del janamargo, por lo que, la cantidad de nutrientes contenidos en los microorganismos será menor, respecto al tiempo anterior, pero seguirá una constante liberación de nutrientes a la solución del suelo.

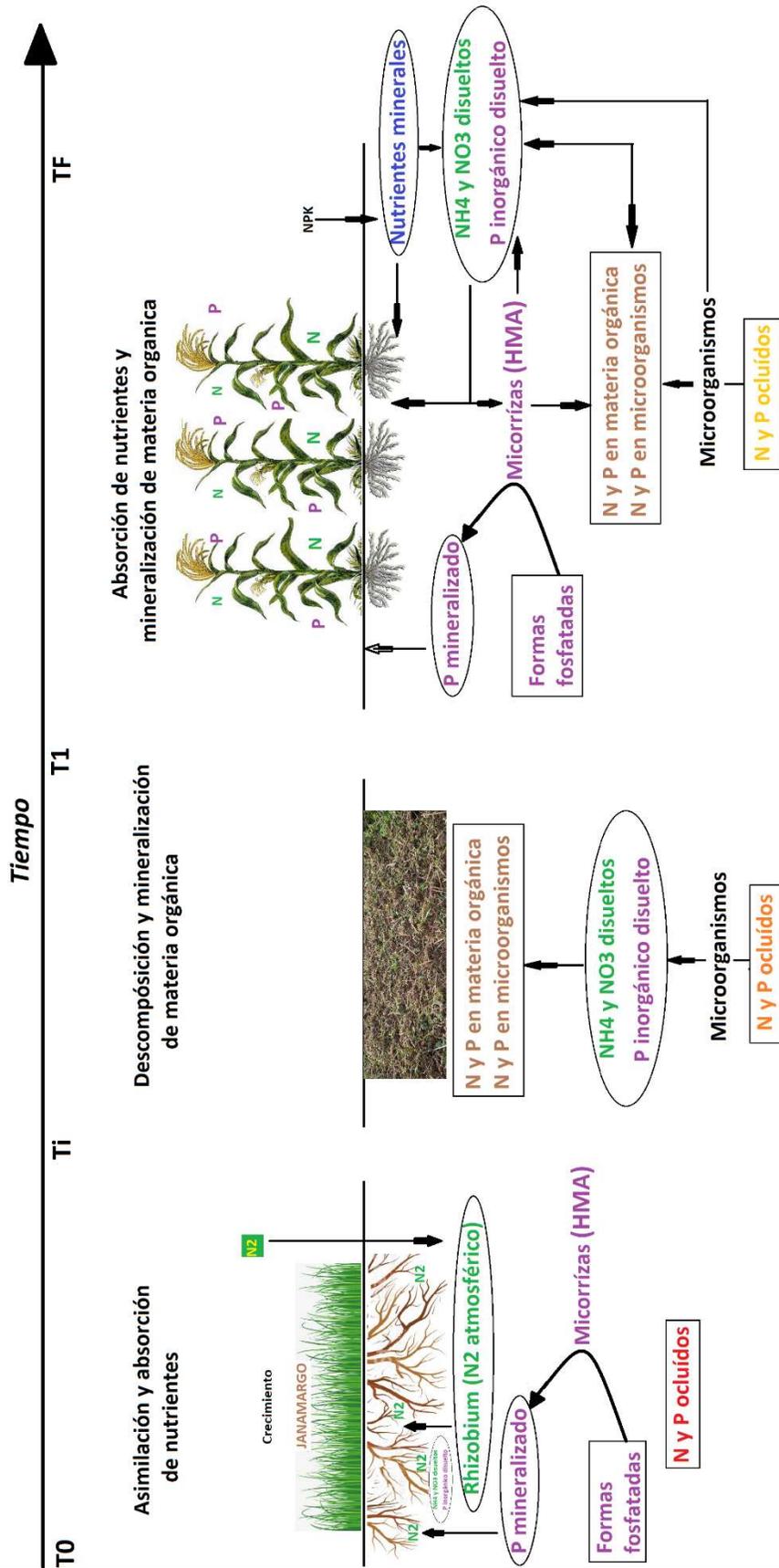


Figura 1. Modelo del agrosistema estudiado en esta investigación (Abono Verde – Microorganismos y suelo – Maíz). Se muestra el flujo de nutrientes entre el suelo microorganismos y las plantas.

1.9 Estructura de la tesis

Para responder a los objetivos planteados, la tesis fue estructurada en seis capítulos, el primer capítulo es de de introducción general, seguido de cuatro capítulos experimentales (Capítulos 2 al 5) y finalmente un capítulo de discusión y conclusiones generales. Uno de los capítulos experimentales ya está publicado y los demás están en forma de manuscrito de artículo científico.

Capítulo 1. Introducción general

En este capítulo se incluyen la introducción general y el marco teórico de la tesis, se plantea la justificación, los objetivos e hipótesis del trabajo.

Capítulo 2. Efectos de la incorporación en el suelo de abonos verdes leguminosos en la actividad microbiológica y en la disponibilidad de N en el suelo.

En este capítulo se evaluaron los efectos de la fertilización y la incorporación de materia orgánica en el suelo en la respiración microbiana, en la mineralización del janamargo y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. El experimento se realizó a través de un método de incubación aeróbica y se encontró que la incorporación de janamargo como abono verde aumentó la respiración microbiana del suelo. Los nutrientes liberados del material orgánico más lábil del janamargo se ocupan para el mantenimiento de la microbiota encargada de la descomposición y la mineralización, lo que nos sugiere que representan una inversión inicial de nutrientes para el mantenimiento de la misma. No obstante, el janamargo tiene una mineralización constante y sus nutrientes liberados podrán ser usados para el siguiente cultivo en rotación.

Capítulo 3. Soil physical disturbance reduces maize growth, nutrition and mycorrhiza formation in a green manure rotation with vetch.

Este capítulo fue publicado en la revista *Rhizosphere* y su objetivo fue comparar los efectos del disturbio en el suelo en una rotación de janamargo como abono verde con maíz en el crecimiento y nutrición (N y P) del maíz, en la formación de micorriza y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo (NO_3^- , NH_4^+ y HPO_4^{2-}). El experimento fue en invernadero con macetas usando suelo con baja disponibilidad de P, y estuvo compuesto en tres fases: crecimiento del janamargo (10 semanas); descomposición del janamargo en el suelo (12 semanas); y crecimiento del maíz hasta mazorca (18 semanas). Se concluyó que el disturbio del suelo previo a la siembra del maíz disminuyó el crecimiento de la planta y la nutrición de la mazorca, la colonización de los HMA en la raíz del maíz, así como la disponibilidad de NO_3^- y que la rotación de cultivos usando abonos verdes incrementó la disponibilidad de PO_4^- en el suelo aún después de haber cosechado maíz.

Capítulo 4. Importancia de la rotación de cultivos con abonos verdes en la interacción del maíz con la micorriza arbuscular.

En este capítulo se investigó el papel de las poblaciones nativas de HMA en la rotación Janamargo-Maíz. Fue un experimento en invernadero en macetas con 4 kg de suelo con bajo contenido de P. Estuvo compuesto por tres fases: una de crecimiento de janamargo durante 10 semanas, otra de descomposición del AV durante 10 semanas y finalmente la de crecimiento del maíz durante 10 semanas. Se encontró que la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendaim fue negativa, pero se mitiga la supresión del crecimiento cuando se usó janamargo como abono verde.

Capítulo 5. Evidencias en campo de los efectos de la fertilización mineral en la rotación abono verde-maíz y en la interacción del maíz con las micorrizas arbusculares

En este capítulo se evaluó en prueba de campo los efectos de la incorporación de materia orgánica con abonos verdes (AV) bajo dos sistemas de labranza (AV incorporado y AV no incorporado), fertilización mineral y la aplicación de Carbendazimen en la productividad y nutrición del maíz, así como en el desempeño de las micorrizas arbusculares y su interacción con el cultivo, y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Se realizó en una parcela agrícola con intenso manejo de fertilización y labranza para el cultivo de maíz. Estuvo compuesto por tres fases: i) crecimiento del janamargo (15 semanas); descomposición del janamargo (8 semanas); y crecimiento del maíz hasta mazorca (25 semanas). Se encontró una respuesta negativa del maíz (en el crecimiento, productividad y calidad de grano) a la micorriza cuando no se aplicó Carbendazim correlacionada con una mayor colonización y frecuencia de vesículas y arbusculos de HMA. La fertilización mineral moderada logró fomentar una respuesta positiva del maíz a la micorriza sin Carbendazim y su manejo en esta rotación de cultivos puede potenciar los beneficios de la micorriza en el cultivo.

Capítulo 6. Discusión general y conclusiones.

En este capítulo se incluyó una discusión integral de los resultados más relevantes de la investigación, así como las conclusiones generales. Se presentó una discusión de los efectos del manejo de las diferentes prácticas agrícolas en el cultivo en el maíz y su interacción con las micorrizas arbusculares, así como en la dinámica de nutrientes. Se incluyó un perspectiva de implementación de los abonos verdes.

1.10 Referencias

- Abawi G. y Widmer, T. 2000. Impact of soil health management practices on soilborne pathogens, nematodes and root diseases of vegetable crops. *Applied Soil Ecology*, **15**:37–47.
- Alexopoulos C., Mims C. y Blackwell M. 1996. *Introductory Mycology*. Wiley, New York, N.Y, E.U.A.
- Alguacil, M., Torrecillas, E., García-Orenes, F., Roldán, A. 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol. Biochem.* **76**:34–44.
- Altieri M. 1987. *Agroecology: the scientific basis of alternative agriculture*. Westview Press, Boulder, CO.
- Altieri M. 1992. *Biodiversidad, Agroecología y Manejo de Plagas*. CETAL Ediciones, Valparaíso, Chile.
- Altieri M. y Nicholls C. 2000. *Agroecología. Teoría y práctica para una agricultura sustentable*. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA). México, D.F., México.
- Altieri M y Nicholls C. 2006. Optimizando el manejo agroecológico de plagas a través de la salud del suelo. *Agroecología*. **1**:29–36.
- Altieri M. y Rosset P. 1995. Agroecology y the conversion of large-scale conventional systems to sustainable management. *International Journal of Environmental Studies* **50**:165–185.
- Axelsen J. y Kristensen K. 2001. Collembola and mites in plots fertilised with different types of green manure. *Pedobiologia*, **44**:556–566.
- Andrades M. y Martínez M. 2014. *Fertilidad del suelo y parámetros que la definen*. Universidad de La Rioja. Logroño, España.

- Badgley C., Moghtader J., Quintero E., Zakem E., Chappell M., Avilés-Vázquez K., Samulon A. y Perfecto I., 2007. Organic agriculture and the global food supply. *Renewable Agriculture and Food Systems*, **22**:86–108.
- Bago B., Pfeffer P., Abubaker J., Jun J., Allen J., Brouillette J., Douds D., Lammers P. y Shachar-Hill Y. 2003. Carbon Export from Arbuscular Mycorrhizal Roots Involves the Translocation of Carbohydrate as well as Lipid. *Plant Physiology*, **131**:1496–1507.
- Bago B., Pfeffer P. y Shachar-Hill Y. 2000. Carbon Metabolism and Transport in Arbuscular Mycorrhizas. 2000. *Plant Physiology*, **124**:949–957.
- Bago B., Pfeffer P., Zipfel W., Lammers P. y Shachar-Hill Y. 2002. Tracking metabolism and imaging transport in arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, **244**:189–197.
- Bais H., Weir T., Perry L., Gilroy S., y Vivanco J. 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annual Review of Plant Biology*, **57**:233–266.
- Bandick A. y Dick R. 1999. Field management effects on soil enzymes activities. *Soil Biology and Biochemistry*, **31**:1471–1479.
- Barea J., Azcon, R. y Azcon-Aguilar C. 2002. Mycorrhizosphere interactions to improve plant fitness and soil quality. *Antonie van Leeuwenhoek*, **81**: 343–351.
- Barrer S. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, **7**:123–132.
- Battini F., Grønlund M., Agnolucci M., Giovannetti M. y Jakobsen I. 2017 Facilitation of phosphorus uptake in maize plants by mycorrhizosphere bacteria. *Scientific Reports*, **7**:4686.
- Becker M., Ladha J., Simpson I. y Ottow J. 1994. Parameters affecting residue N mineralization in flooded soils. *Soil Science Society of America Journal*, **58**:1666–1671.

- Bethlenfalvai G. 1991. Mycorrhizae and crop productivity. En: Bethlenfalvai G. y Linderman R. (eds.). *Mycorrhizae in Sustainable Agriculture*. pp. 1-27. Special Publication 54. American Society of Agronomy Madison, WI, E.U.A.
- Bethlenfalvai G. y Linderman R. 1992. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA. Special Publication, Madison, Wisconsin. 124 pp.
- Bharadwaj D., Lundquist P. y Alström, S. 2008. Arbuscular mycorrhizal fungal spore-associated bacteria affect mycorrhizal colonization, plant growth and potato pathogens. *Soil Biology and Biochemistry*, **40**:2494–2501.
- Boddington C. y Dodd J. 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil*, **218**:137–144.
- Boswell E., Koide R., Shumway D. y Addy H. 1998. Winter wheat cover cropping, VA mycorrhizal fungi and maize growth and yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **67**:55–65.
- Bücking H., & Shachar-Hill, Y. 2005. Phosphate uptake, transport and transfer by the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is stimulated by increased carbohydrate availability. *New Phytologist*, **165**(3):899-912.
- Bunch R. 2004. *El uso de Abonos Verdes por agricultores campesinos: lo que hemos aprendido hasta la fecha*. Centro Internacional sobre Cultivos de Cobertura (CIDICCO). Tegucigalpa, Honduras.
- Campos F., Borie. Cornejo P. López-Ráez J, López-García A. y Seguel A. 2018. Phosphorus Acquisition Efficiency Related to Root Traits: Is Mycorrhizal Symbiosis a Key Factor to Wheat and Barley Cropping? *Frontiers in Plant Science*, **9**:1–21.

- Cano M. 2011. Una revisión de la interacción de organismos benéficos en plantas: micorrizas, *Trichoderma* spp y *Pseudomonas* spp. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* **14**:15–31.
- Chaves B., De Neve S., Hofman G., Doeckx P. y Van Cleemput O. 2004. Nitrogen mineralization of vegetable root residues and green manures as related to their (bio)chemical composition. *European Journal of Agronomy*, **21**:161–170.
- Cherr, C., Scholberg, J., McSorley, R. 2006. Green Manure Approaches to Crop Production: A Synthesis. *Agronomy J.* **98**:302–319.
- Conway, G. R. y Pretty, J. N. 1991. *Unwelcome harvest: agriculture and pollution*. Earthscan Publisher. Londres, Reino Unido.
- CTIC, 2010. *Cropping Decisions Survey*. Conservation Technology Information Center, West Lafayette, IN.
- De Neve S., y Hofman G. 1996. Modelling N mineralization of vegetable crop residues during laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**:1451–1457.
- De Notaris C., Rasmussen J., Sørensen P. y Eivind Olesen J. 2018. Nitrogen leaching: A crop rotation perspective on the effect of N surplus, field management and use of catch crops. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **255**:1–11.
- Debosz K., Rasmussen, P. y Pedersen, A. 1999. Temporal variations in microbial biomass C and cellulolytic enzyme activity in arable soils: effects of organic matter input. *Applied Soil Ecology*, **13**:209–218.
- Delgado-Baquerizo M., Maestre, F. T., Reich, P. B., Jeffries, T. C., Gaitan, J. J., Encinar, D. y Singh, B. K. 2016. Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature communications*, **7**:10541.

- Di Martino C., Palumbo G., Vitullo D., Di Santo P. y Fuggi A. 2018. Regulation of mycorrhiza development in durum wheat by P fertilization: Effect on plant nitrogen metabolism. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **181**:429–440.
- Doebley, J.F., y H.H. Iltis. 1980. Taxonomy of *Zea* (Gramineae). I. A subgeneric classification with key to taxa. *American Journal of Botanica* **67**:982–993.
- Douds D., Pfeffer P. y Shachar-Hill Y. 2000 Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizae in arbuscular mycorrhizas: physiology and function. En Kapulnick D. y Douds Jr. (Eds.). *Arbuscular Mycorrhizas: Molecular Biology and Physiology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Drinkwater L. E., Wagoner, P., y Sarrantonio, M. 1998. Legume-based cropping systems have reduced carbon and nitrogen losses. *Nature*, **396**(6708):262.
- Eriksen J. y Thorup-Kristensen K. 2002. The effect of catch crops on sulphate leaching and availability of S in the succeeding crop. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **90**:247–254.
- Ezawa T. y Saito K. 2018. How do arbuscular mycorrhizal fungi handle phosphate? New insight into fine-tuning of phosphate metabolism. *New Phytologist*, **220**:1116–1121.
- Finn D., Kopittke, P. M., Dennis, P. G., y Dalal, R. C. 2017. Microbial energy and matter transformation in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **111**:176–192.
- Folorunso O., Rolston D., Prichard T. y Louie D. 1992. Soil surface strength and infiltration rate as affected by winter cover crops. *Soil Technology*, **5**:189–197.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2003. *Maize: Post-Harvest Operation*. Food and Agriculture Organization of United Nations. Roma, Italia.
- Gabriel J., Alonso-Ayuso M., García-González I., Hontoria C. y Quemada M. 2016. Nitrogen use

- efficiency and fertiliser fate in a long-term experiment with winter cover crops. *European Journal of Agronomy*, **79**:14–22.
- Gahoonia T., Asmar F., Gise H., Gissel-Nielsen G., y Nielsen N. 2000. Root-released organic acids and phosphorus uptake of two barley cultivars in laboratory and field experiments. *European Journal of Agronomy*, **12**:281–289.
- Gahoonia T., y Nielsen N. 1997. Variation in root hairs of barley cultivars doubled soil phosphorus uptake. *Euphytica*, **98**:177–182.
- Garcia K., Doidy J., Zimmermann S., Wipf D. y Courty P. 2016. Take a trip through the plant and fungal transportome of mycorrhiza. *Trends in Plant Science*, **21**(11):937–950.
- Garcia K. y Zimmermann S. 2014. The role of mycorrhizal associations in plant potassium nutrition. *Frontiers in Plant Science*, **5**(337):1–9.
- Gavito M. y Miller, M. 1998. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and soil*, **198**(2):185–192.
- Giles C., Brown L., Adu M., Mezeli M., Sandral G., Simpson, R. 2017. Response-based selection of barley cultivars and legume species for complementarity: Root morphology and exudation in relation to nutrient source. *Plant Sci.* **255**:12–28.
- Giovannetti M., Sbrana C. y Logi C. 2000. Microchambers and video-enhanced light microscopy for monitoring cellular events in living hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil*, **226**:153–159.
- Gliessmann S. 1990. Ecology and management of traditional farming systems. In: Altieri M. y Hecht B. (eds.). *Agroecology and Small Farm Development*. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Gliessman S. 1998. *Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible*. LITOCAT.

Turrialba, Costa Rica.

- Goñi J., Lafarga A., Segura A. y Delgado J. 2004. Estrategias para el desarrollo de las leguminosas grano en Navarra. *Navarra agraria*, **147**:19–24.
- Govindarajulu M., Pfeffer P., Jin H., Abubaker J., Douds D., Allen J., Bücking H., Lammers P. y Shachar-Hill Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, **435**(7043):819–823.
- Gselman, A., Kramberger, B., 2008. Benefits of winter legume cover crops require early sowing. *Australian Journal of Agricultural Research*, **59**:1156–1163.
- Guanche A. 2012. *Los Abonos Verdes: Información técnica*. AgroCabildo. Tenerife, España.
- Guzmán G. y Alonso A. 2008. *Buenas Prácticas en Producción Ecológica: Uso de Abonos Verdes*. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Santa Fe, Granada, España.
- Hermawan B. y Bomke A. 1997. Effects of winter cover crops and successive spring tillage on soil aggregation. *Soil & Tillage Research*, **44**:109–120.
- Hinsinger P., Bengough, A., Vetterlein D. y Young I. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. *Plant and soil*, **321**:117–152.
- Hijikata N., Murase M., Tani C., Ohtomo R., Osaki M. y Ezawa T. 2010. Polyphosphate has a central role in the rapid and massive accumulation of phosphorus in extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, **186**:285–289.
- Hodge A., Helgason T. y Fitter A. 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, **3**:267–273.
- Holford I. 1997. Soil phosphorus: its measurement, and its uptake by plants. *Soil Research*, **35**:227–240.
- Jakobsen I., Abbott L. y Robson A. 1992. External hyphae of vesicular–arbuscular mycorrhizal

- fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 1. Spread of hyphae and phosphorus inflow into roots. *New Phytologist*, **120**:371–379.
- Jakobsen I., Abbott L. y Robson A. 1992b. External hyphae of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. 2. Hyphal transport of ^{32}P over defined distances. *New Phytologist*, **120**:509–516.
- Jakobsen I., Gazey C., y Abbot, L. 2001. Phosphate transport by communities of arbuscular mycorrhizal fungi in intact soil cores. *New Phytologist*, **149**:95–103.
- Jakobsen, I., y Rosendahl, L. 1990. Carbon flow into soil and external hyphae from roots of mycorrhizal cucumber plants. *New Phytologist*, **115**:77–83.
- Jansa J., Mozafar A., Anken T., Ruh R., Sanders I. y Frossard E. 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza*, **12**:225–234.
- Jansa J., Mozafar A. y Frossard E. 2005. Phosphorus acquisition strategies within arbuscular mycorrhizal fungal community of a single field site. *Plant and Soil*, **276**:163–176.
- Janvier C., Villeneuve F., Alabouvette C., Edel-Hermann V., Mateille T. y Steinberg C. 2007. Soil health through soil disease suppression: which strategy from descriptors to indicators? *Soil Biology and Biochemistry* **39**:1–23.
- Johansen A., Finlay R. y Olsson, P. 1996 Nitrogen metabolism of external hyphae of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytologist*, **133**:705–712.
- Johri A., Oelmüller R., Dua M., Yadav V., Kumar M., Tuteja N., Varma A., Bonfante P., Persson B. y Stroud R. (2015) Fungal association and utilization of phosphate by plants: success, limitations, and future prospects. *Frontiers in Microbiology*, **6**:984.
- Jones D. 1998. Organic acids in the rhizosphere—a critical review. *Plant Soil*, **205**:25–44.
- Jugenheimer R.W. 1988. *Maíz, variedades mejoradas, métodos de cultivo y producción de*

semillas. Limusa. México. 841pp.

Kabir Z. y Koide R. 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **78**:167–174.

Karandashov V. y Bucher M. Symbiotic phosphate transport in arbuscular mycorrhizas. 2005. *Trends in Plant Science*, **10**:22–29.

Karandashov V., Nagy R., Wegmuller S., Amrhein N. y Bucher M. 2004. Evolutionary conservation of a phosphate transporter in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **101**:6285–6290.

Karasawa T., Kasahara Y., y Takebe M. 2001. Variable response of growth and arbuscular mycorrhizal colonization of maize plants to preceding crops in various types of soils. *Biology and Fertility of Soils*, **33**:286–293.

Kato Yamakake T., Mapes Sánchez C., Mera Ovando L., Serratos Hernández J. y Bye Boettler R. 2009 *Origen y Diversificación del Maíz*. Una Revisión Analítica. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México D.F., México.

Kikuchi Y., Hijikata N., Ohtomo R., Handa Y., Kawaguchi M., Saito K., Masuta C. y Ezawa T. 2016. Aquaporin-mediated long-distance polyphosphate translocation directed towards the host in arbuscular mycorrhizal symbiosis: application of virus-induced gene silencing. *New Phytologist*, **211**:1202–1208.

Kikuchi Y., Hijikata N., Yokoyama K., Ohtomo R., Handa Y., Kawaguchi M., Saito K., y Ezawa T. 2014. Polyphosphate accumulation is driven by transcriptome alterations that lead to near-synchronous and near-equivalent uptake of inorganic cations in an arbuscular

- mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, **204**:638–649.
- Klironomos, J. N. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology*, **84**:2292–2301.
- Koide R. y Kabir Z. 2000. Extraradical hyphae of the mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* can hydrolyse organic phosphate. *New Phytologist*, **148**:511–517.
- Kurle J. y Pflieger F. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. En: Pflieger F y Linderman R. (eds.) *Mycorrhizae and plant health*. pp 101–131. APS Press.
- Lal R. 2010. Managing soils and ecosystems for mitigating anthropogenic carbon emissions and advancing global food security. *BioScience*, **60**:708–721.
- Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M. y González-Esquivel C. 2015. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **15**(2):449–463.
- Latati M., Bargazb A., Belarbi B., Lazali M., Benlahrech S., Tellah S., Kaci G., Drevon J. y Ounane S. 2016. The intercropping common bean with maize improves the rhizobial efficiency, resource use and grain yield under low phosphorus availability. *European Journal of Agronomy*, **72**:80–90.
- Lehmann A. y Rillig, M. 2015. Arbuscular mycorrhizal contribution to copper, manganese and iron nutrient concentrations in crops—A meta-analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, **81**:147–158.
- Lemanceau P., Maron P., Mazurier S., Mougél C., Pivato B., Plassart P. y Wipf D. 2015. Understanding and managing soil biodiversity: a major challenge in agroecology. *Agronomy for sustainable development*, **35**:67–81.
- Li H., Zhu Y., Marschner P., Smith F. y Smith S. 2005. Wheat responses to arbuscular mycorrhizal

- fungi in a highly calcareous soil differ from those of clover, and change with plant development and P supply. *Plant Soil*, **277**:221–232.
- Lin P., Huang M. y Chao Y. 2018. Effects of various leguminous intercrops on maize yield. *Maydica*, **63**(2):1–6.
- Logi C., Sbrana C. y Giovannetti M. 1998. Cellular events involved in survival of individual arbuscular mycorrhizal symbionts growing in the absence of the host. *Applied and Environmental Microbiology*, **64**:3473–3479.
- Lundgren J. y Fergen J. 2011. Enhancing predation of a subterranean insect pest: a conservation benefit of winter vegetation in agroecosystems. *Applied Soil Ecology*. **51**:9–16.
- Lupwayi, N. Z., and Haque, I. (1998). Mineralization of N, P, K, Ca and Mg from Sesbania and Leucaena leaves varying in chemical composition. *Soil Biology and Biochemistry*, **30**:337–343.
- Lynch J. 1990. *The Rhizosphere*. Wiley. Londres, Reino Unido.
- Magdoff F. y Van Es H. 2000. *Building soils for better crops*. SARE. Washington D.C., E.U.A.
- Mejía D. 2003. *Maize: Post-Harvest Operation*. FAO, AGST. Roma, Italia.
- Mendes I., Bandick A., Dick R. y Bottomley, P. 1999. Microbial biomass and activities in soil aggregates affected by winter cover crops. *Soil Science Society of America Journal*, **63**:873–881.
- Meyer L., Dabney S., Murphree C., Harmon W. y Grissinger, E. 1999. Crop production systems to control erosion and reduce runoff from upland silty soils. *Transactions of the American Society of Agricultural Engineers*, **42**:1645–1652.
- Miller M., McGonigle T., Addy H. 1995. Functional ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Critical*

Reviews in Biotechnology, **15**: 241–255.

Morgan J., Bending G., y White P. 2005. Biological costs and benefit to plant–microbe interactions in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany*, **56**:1729–1739.

Myers R., Pal C., Cuevas E. y Gunatilleke I. 1994. The synchronization of nutrient mineralization and plant nutrient demand. En: Woomer P. y Swift M. (Eds.), *The Biological Management of Tropical Soil Fertility*. Wiley-Sayce Publication, Chichester, UK.

Nadal A. y Wise T. 2004. Los costos ambientales de la liberación agrícola: El comercio de maíz entre México y Estados Unidos en el marco del NAFTA. En: Blanco H., Toledo de Algueira L. y Gallagher K. (Eds.). *Globalización y medio ambiente lecciones desde las Américas*. Heinrich Böll Foundation North America. E.U.A. pp. 1–44.

Nehls U. y Dietz S. 2014. Fungal aquaporins: cellular functions and ecophysiological perspectives. *Applied Microbiology and Biotechnology*, **98**:8835–8851.

Njeru E. M., Bocci G., Avio L., Sbrana C., Turrini A., Giovannetti M., y Bàrberi P. 2017. Functional identity has a stronger effect than diversity on mycorrhizal symbiosis and productivity of field grown organic tomato. *European journal of agronomy*, **86**:1–11.

Oehl F., Laczko E., Bogenrieder A., Stahr K., Bosch R., van der Heijden M. y Sieverding E. 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology and Biochemistry*, **42**:724–738.

Ordoñez Y., Fernandez B., Lara L., Rodriguez A., Uribe-Vélez D. y Sanders I. 2016. Bacteria with phosphate solubilizing capacity alter mycorrhizal fungal growth both inside and outside the root and in the presence of native microbial communities. *PLoS ONE*, **11**(6): e0154438.

Pandey A., Li F., Askegaard M. y Olesen J. 2017. Biological nitrogen fixation in three long-term

- organic and conventional arable crop rotation experiments in Denmark. *European Journal of Agronomy*, **90**:87–95.
- Pearson J. y Jakobsen I. 1993 Symbiotic exchange of carbon and phosphorus between cucumber and three arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, **124**:481–488.
- Perdigão A., Coutinho J., Moreira N. 2010. Cover crops as nitrogen source for organic farming in southwest Europe. *Acta Horticulturae*, **933**:355–361.
- Powell J., Parrent J., Hart M., Klironomos J., Rillig M. y Maherali H (2009) Phylogenetic trait conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 276:4237–4245.
- Raaijmakers J., Paulitz T., Steinberg C., Alabouvette C. y Moënne-Loccoz Y. 2009. The rhizosphere: a playground and battlefield for soilborne pathogens and beneficial microorganisms. *Plant and Soil* **321**:341–361.
- Ravnskov S., Larsen J, Olsson P. y Jakobsen I. 1999. Effects of various organic compounds on growth and phosphorus uptake of an arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytologist*, **141**:517–524.
- Reyes C., P. 1990. *El maíz y su cultivo*. AGT-EDITOR S.A. México, D.F.
- Robacer M., Canali S., Lakkenborg Kristensen H., Bavec F., Grobelnik Mlakar S., Jakop M. y Baveca M. 2016. Cover crops in organic field vegetable production. *Scientia Horticulturae*, **208**:104–110.
- Ron P., Sánchez G., Jiménez C., Carrera V., Martín L., Morales R., de la Cruz L., Hurtado P., Mena M. y Rodríguez F. 2006. *Maíces nativos del Occidente de México*. 2004. *Scientia-CUCBA* **8**:1–139.
- Ryan M. y Graham J. 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of

- arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist*, **220**:1092–1107.
- Ryan M., Mirsky S., Mortensen D., Teasdale J. y Curran W. 2011. Potential synergistic effects of cereal rye biomass and soybean planting density on weed suppression. *Weed Science* **59**:238–246.
- Sarwar M., Kirkegaard J., Wong P. y Desmarchelier J. 1998. Biofumigation potential of brassicas—III. In vitro toxicity of isothiocyanates to soil-borne fungal pathogens. *Plant Soil*, **201**:103–112.
- Sawers R., Gutjahr C. y Paszkowski U. 2008. Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in plant science*, **13**:93–97.
- Schalamuk S. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Micología* **98**:16–22.
- Schipanski M., Barbercheck M., Douglas M., Finney D., Haider K., Kaye J., Kemanian A., Mortensen D., Ryan M., Tooker J. y White C. 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, **125**:12–22.
- Schipanski M. y Drinkwater L. 2011. Nitrogen fixation of red clover interseeded with winter cereals across a management-induced fertility gradient. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **90**:105–119.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. 2008. *Anuario de la Producción Agrícola*. México, D.F.
- Shachar-Hill Y, Pfeffer P., Douds D., Osman S., Doner L. y Ratcliffe R. 1995 Partitioning of intermediate carbon metabolism in VAM colonized leek. *Plant Physiol*, **108**:7–15
- Sharma S., Sayyed R., Trivedi M. y Gobi T. 2013. Phosphate solubilizing microbes: sustainable approach for managing phosphorus deficiency in agricultural soils. *SpingerPlus*, **2**:587.

- Six, J., Elliott, E., Paustian, K. 2000. Soil macroaggregate turnover and microaggregate formation: a mechanism for C sequestration under no-tillage agriculture, *Soil Biology and Biochemistry*, **32**:2099–2103.
- Smith S. E. y Read D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Elsevier. Oxford, Reino Unido.
- Smith S., Smith F y Jakobsen I. 2003. Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses. *Plant Physiology*, **133**:16–20.
- Smith S., Smith F. y Jakobsen I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, **162**:511–524.
- Solaiman Z. 2014. Contribution of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon sequestration. En: Solaiman, L., Abbott A. y Varma A. (Eds.) *Mycorrhizal fungi: Use in sustainable agriculture and land restoration*, Soil Biology series 41, (287-296) Springer verlag Berlin Heidelberg.
- Solaiman M. y Saito M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytologist*, **136**:533–538.
- Tejada M., González J., García-Martínez A y Parrado J. 2008. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *Bioresource Technology*, **99**:1758–1767.
- Thorup-Kristensen, K., 1999. An organic vegetable crop rotation aimed at self-sufficiency in nitrogen. In: Olesen, J.E., Eltun, R., Goulding, M.J., Jensen, E.S., Köpke, U. (Eds.), *Designing and testing crop rotations for organic farming*, Proceedings from an International workshop. DARCOF Report No. 1, 133–140.
- Thorup-Kristensen, K., Magid, J., Jensen, L.S., 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Advances in Agronomy*, **79**:227–301.

- Thorup-Kristensen, K., Bodin Dresboll, D., Kristensen, L., H, 2012. Crop yield, root growth, and nutrient dynamics in a conventional and three organic cropping systems with different levels of external inputs and N re-cycling through fertility building crops. *European Journal of Agronomy*, **37**:66–82.
- Tilman, D., 1998. The greening of the green revolution. *Nature* **396**:211–212.
- Tonitto C., Davi M. y Drinkwater L. 2006. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: a meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **112**:58–72.
- Treseder Allen B., Egerton-Warburton L., Hart M., Klironomos J., Maherali H. y Tedersoo L. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungi as mediators of ecosystem responses to nitrogen deposition: A trait-based predictive framework. *Journal of Ecology*, **106**:480–489.
- Trevors J.T., 1984. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology and Biochemistry*, **16**:673–674.
- Universidad Nacional Autónoma de México. 2007. *Nuevo Atlas de México*. Instituto de Geografía. 2da. Ed. México, D.F.
- Van der Heijden M., Klironomos J., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T. y Sanders I. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature*, **396**(6706): 69.
- Vannette R. y Hunter M. 2009. Mycorrhizal fungi as mediators of defence against insect pests in agricultural systems. *Agricultural and Forest Entomology*, **11**:351–358.
- Verbruggen E, y Kiers E. 2010. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evol Appl* **3**:547–560.
- Veresoglou S., Sen R., Mamolos A. y Veresoglou D. 2011. Plant species identity and arbuscular

- mycorrhizal status modulate potential nitrification rates in nitrogen-limited grassland soils. *Journal of Ecology*, **99**:1339–1349.
- Viereck N., Hansen P. y Jakobsen I. 2004. Phosphate pool dynamics in the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* studied by in vivo ³¹P NMR spectroscopy. *New Phytologist*, **162**:783–794.
- Wahbi S., Prin Y., Thioulouse J., Sanguin H., Baudoin E., Maghraoui T. y Duponnois R. 2016. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities. *Frontiers in plant science*, **7**:1364.
- Wang J., y Bakken, L. 1997. Competition for nitrogen during decomposition of plant residues in soil: Effect of spatial placement of N-rich and N-poor plant residues. *Soil Biology and Biochemistry*, **29**:153–162.
- Wells M., Reberg-Horton S. y Smith A., 2010. *Nitrogen immobilization in a rye (Secale cereale L.) roll-killed system*. In: Proceedings of the International Annual Meetings of the ASA-CSSA-SSSA, ASA, CSSA, and SSSA, Madison, WI, pp. 60044.
- White C., Tianna DuPont S., Hautau M., Hartman D., Finney D., Bradley B., LaChance J. y Kaye J. 2017. Managing the tradeoff between nitrogen supply and retention with cover crop mixtures. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, **237**:121–133.
- Williams A., Manoharan L., Rosenstock N., Olsson P. y Hedlund K. 2017. Longterm agricultural fertilization alters arbuscular mycorrhizal fungal community composition and barley (*Hordeum vulgare*) mycorrhizal carbon and phosphorus exchange. *New Phytol* 213:874–885
- Wilson G., Rice C., Rillig M., Springer A. y Hartnett D.C. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi:

results from long-term field experiments. *Ecology Letters*, **12**:452–461.

Xavier L. y Germida, J 2003. Bacteria associated with *Glomus clarum* spores influence mycorrhizal activity. *Soil Biology and Biochemistry*, **35**:471–478.

Zhang L., Xu M., Liu Y., Zhang F., Hodge A. y Feng G. 2016. Carbon and phosphorus exchange may enable cooperation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. *New Phytologist*, **210**:1022–1032.

CAPÍTULO 2

EFFECTOS DE LA INCORPORACIÓN EN EL SUELO DE ABONOS VERDES LEGUMINOSOS EN LA ACTIVIDAD MICROBIOLÓGICA Y EN LA DISPONIBILIDAD DE N EN EL SUELO

Resumen

La materia orgánica es una de las características más importantes en las propiedades de los suelos agrícolas, y la incorporación de abonos verdes leguminosos como el janamargo (*Vicia sativa* L.) representa una importante fuente de N y P orgánico y promueve la actividad microbológica del suelo. El objetivo de este experimento fue evaluar los efectos de la incorporación de materia orgánica y la fertilización mineral en la respiración microbiana, en la mineralización del janamargo y en la disponibilidad de N en el suelo. El experimento se realizó a través de un método de incubación aeróbica en tubos de cloruro de polivinilo (PVC), en la oscuridad y en frascos individuales por 19 días a 26 °C. El diseño experimental fue completamente factorial al azar con dos factores principales: factor 1, fertilización mineral (sin y con); factor 2, incorporación de materia orgánica del janamargo (sin y con). En total fueron 4 tratamientos con 5 repeticiones, con 20 unidades experimentales. La incorporación de janamargo y la fertilización mineral aumentaron la actividad de la microbiología edáfica medida con la respiración microbiana y éste aumento fue continuo al final del experimento. La incorporación de janamargo incrementó el NH_4^+ disuelto, sin embargo, disponibilidad de NO_3^- después de 19 días de incubación, no aumentó. Esto nos sugiere que los nutrientes disponibles liberados del material orgánico más lábil del janamargo (parte aérea), se ocuparon para el mantenimiento de la microbiota y quedaron inmovilizados en los microorganismos encargados de la mineralización, de esta manera representaron una inversión inicial de nutrientes para el mantenimiento de la microbiota. Al continuar la respiración microbiana, los nutrientes del material orgánico de las raíces que tienen una mineralización más lenta y constante, serán liberados posteriormente.

Palabras clave: *Materia orgánica, descomposición, mineralización, amonio, nitrato.*

2.1 Introducción

Los agroecosistemas proporcionan uno de los principales servicios ecosistémicos (SE) de aprovisionamiento necesarios para el ser humano: la producción de alimentos (Power, 2010). No obstante, para que este servicio sea óptimo, es necesario la presencia de otros SE de regulación y soporte. Las prácticas agrícolas convencionales sin rotación de cultivos o incorporación de materia orgánica y que están dominadas por monocultivos, labranza convencional, uso masivo de biocidas y fertilizantes químicos afectan negativamente diversos SE como el control de la erosión o el reciclaje de nutrientes (Power, 2010; Schipanski y Drinkwater, 2011; Schipanski *et al.*, 2014; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016; Finn *et al.* 2017). Uno de los elementos de los agrosistemas que suelen ser más afectados por las distintas prácticas agrícolas, es la microbiota edáfica, la cual, juega un papel muy importante en los agroecosistemas, ya que regula algunos de los SE que proporcionan estos ambientes, como la regulación de la dinámica del C, N y P en el suelo (Lemanceau *et al.*, 2015; Delgado-Baquerizo *et al.*, 2016). Así mismo al reproducirse los microorganismos heterótrofos que despolimerizan la materia orgánica y mineralizan sus nutrientes, fomentan el reciclaje y almacenamiento de carbono en el suelo (Power, 2010) y juegan un papel clave en la emisión de GEI (Finn *et al.* 2017).

Una alternativa para disminuir el impacto sobre la microbiota edáfica es la implementación de agrosistemas diversificados con rotación de cultivos usando abonos verdes (AV). Los AV normalmente son usados como precultivo y son incorporados en el suelo antes del cultivo principal y se dejan un tiempo para promover su descomposición y liberar los nutrientes en el suelo para el cultivo principal (Cherr *et al.*, 2006). Los AV también tienen otras funciones como incrementar el contenido de materia orgánica en el suelo, aumentar la diversidad y actividad de la microbiota edáfica y modificar sus interacciones con el cultivo (Thorup-Kristensen *et al.*, 2003). La

incorporación de AV promueve los SE que proporciona la microbiota edáfica, incluyendo: servicios de regulación (control de la erosión, el control biológico) (Lundgren y Fergen, 2011; Ryan *et al.*, 2011); de soporte (el reciclaje de nutrientes) (Tonitto *et al.*, 2006; Schipanski y Drinkwater, 2011). Dentro de estos servicios, el SE relacionado al suministro y reciclaje de N es más complejo, por ejemplo, al usar leguminosas como AV, se promueve la fijación y mineralización del nitrógeno y, por tanto, su disponibilidad en el suelo, lo cual puede reducir el uso de fertilizantes químicos y las emisiones de carbono asociadas a su producción. Además, un exceso en el suministro de N sintético en los cultivos aumenta la emisión de NO_2 (servicio de regulación), teniendo efectos en la calidad del agua y del aire (Schipanski *et al.*, 2014) y el uso de AV puede disminuir la lixiviación de nitrógeno que contamina cuerpos de agua y el aire (Lal, 2010).

Los efectos de los AV en las diferentes propiedades del suelo, en la microbiota y en la actividad enzimática del suelo, así como en la productividad de los cultivos, depende mayormente de la calidad, la composición bioquímica y la estequiometría de los componentes principales de cada AV (Tejada *et al.*, 2008). Una manera para evaluar la influencia de la materia orgánica y la calidad química de los componentes principales de los diferentes AV en las propiedades del suelo es midiendo la estequiometría de sus compuestos principales. La relación C/N de los AV es el factor más importante en el balance entre mineralización e inmovilización y es el mejor parámetro que controla la mineralización de la materia orgánica (Becker *et al.*, 1994). Por su parte, la relación lignina/nitrógeno (L/N) es el mayor factor que controla mineralización de N (Neve y Hofman, 1996) y es el mejor parámetro predictivo del N que potencialmente puede ser mineralizado (Becker *et al.*, 1994; Tejada *et al.*, 2008). Por lo tanto, la relación C/N de los distintos AV usados, se manifiesta en cambios en la estequiometría del suelo, específicamente en la relación C/N (Fox *et al.*, 1990). Si se quiere que favorecer el reciclaje de la materia orgánica y que los AV funcionen

como complemento de los nutrientes en el suelo, la aplicación de cada variedad de AV debe estar relacionada con la estequiometría química del suelo.

Tejada *et al.*, (2008) plantearon que, para favorecer la mineralización de los nutrientes sobre la inmovilización de los mismos, la relación C/N de los abonos verdes debe tener valores <20, teniendo un valor óptimo entre 10 y 12. En ese sentido, la aplicación de AV leguminosos además de incrementar la biomasa (C) microbiana, aumentan la respiración del suelo, debido a que incorporan material orgánico lábil (con relación C/N baja), lo que estimula la actividad microbiológica que a su vez, incrementa la actividad enzimática de la deshidrogenasa, ureasa, β -glucosidasa, fosfatasa alcalina y la aril sulfatasa.

Otro punto importante es que la mayoría de la información estequiométrica se basa en la medición de toda la planta; sin embargo, no todas las partes de las plantas tienen la misma calidad química y proporción de sus nutrientes. En ese sentido, hace falta información respecto a la tasa de mineralización de las raíces, las cuales pueden contener más del 40 % de N total y tienen elementos más recalcitrantes que pueden liberar los nutrientes después de 6 meses o incluso inmovilizarlo, como el caso de algunas brassicáceas (Chaves *et al.*, 2004). Por el contrario, algunas leguminosas liberan más de la mitad de sus nutrientes en sólo tres semanas (Schomberg *et al.*, 2006).

Además de los factores ya mencionados, otra forma de medir los efectos de los abonos verdes en las propiedades y en la microbiota nativa del suelo, es la medición de la respiración microbiana y de las actividades enzimáticas, como la actividad de la deshidrogenasa, que, al estar involucrada desde en procesos intracelulares hasta en procesos de fosforilación oxidativa, sirve como indicador general de toda la actividad microbiológica (Trevors, 1984). Sin embargo, las actividades enzimáticas pueden tener cambios significativos de acuerdo a la recalcitrancia de los compuestos (relación C/N, L/N) de cada AV (Iyyemperumal y Shi, 2008). En ese sentido, cuando

se comparan diferentes AV (leguminoso y no leguminosos), se observa que en el suelo con AV leguminoso se ve incrementada la actividad de la deshidrogenasa, indicando que su materia orgánica es más lábil y por ende se vio incrementada la actividad microbiológica, ya que, la materia está siendo descompuesta más fácilmente. El incremento de las enzimas puede ser un indicador de que no hay inhibidores ni energéticos (C), ni limitantes nutricionales de N o P.

La diversificación de cultivos en los agrosistemas usando los AV leguminosos como el janamargo, que tiene una buena calidad química (baja relación C/N y L/N) y una gran capacidad de asociación con bacterias fijadoras de nitrógeno y HMA, tienen diversos efectos favorables en los SE y en las propiedades físicas y químicas del suelo. Así mismo, fomentan la microbiología edáfica benéfica, aumentan la fertilidad del suelo para los cultivos, y mantienen la estabilidad de muchos procesos ecológicos en los agrosistemas. Sin embargo, a pesar de que sus efectos no son tan marcados al inicio, son acumulativos y son una alternativa viable para un buen manejo de los agrosistemas. Es por eso que en esta investigación se plantea el objetivo de evaluar los efectos de la fertilización y la incorporación de materia orgánica en el suelo en la respiración microbiana, en la mineralización del janamargo y en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. La hipótesis del trabajo fue que la incorporación de materia orgánica aumenta la actividad microbiológica y la disponibilidad de nitrógeno en el suelo, y la fertilización mineral acelera los procesos.

2.2 Materiales y Métodos

2.2.1 Sitio y suelo

El experimento se realizó a través de un método de incubación aeróbica en el laboratorio de Biogeoquímica de suelos del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad,

Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Morelia. Se utilizó suelo proveniente de la localidad de Ampliación Jamaica, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, México (19°51'02" N, 101°08'19" O). El clima de la región es templado subhúmedo (Cw1; García, 2004). El tipo de suelo es Feozem (WRB) y ha sido usado históricamente para el cultivo de maíz (INEGI, 1979). Es un suelo franco arcillo arenoso (60.92%, 15.84% y 23.24% de arena, limo y arcilla, respectivamente), con 1.14% de materia orgánica, pH alcalino (8.33) y una concentración de fósforo y nitrógeno disponibles (20.11 y 67.04 µg/g, respectivamente).

2.2.2 Diseño experimental y protocolo

El diseño experimental fue factorial 2×2 balanceado, con dos factores principales: factor incorporación de materia orgánica con dos niveles (sin janamargo y con janamargo); y factor fertilización mineral con dos niveles (sin NPK y con NPK). En total fueron 4 tratamientos, con 5 repeticiones, resultando 20 unidades experimentales (UE). El experimento se realizó por medio de incubación aeróbica en tubos de cloruro de polivinilo (PVC) de 5 cm de diámetro, con una malla de 0.15 mm en la parte inferior. Para cada una de las UE se usaron 100 g de suelo. Las muestras fueron humedecidas al 80% C.C con agua desionizada por capilaridad y fueron incubadas en la oscuridad en frascos individuales por 19 días a 26 °C. La humedad del suelo fue ajustada y los frascos aireados periódicamente para evitar condiciones anaeróbicas en las muestras.

2.2.3 Tratamientos con abonos verdes

El material orgánico del janamargo (*Vicia sativa* L.) usado para el experimento se obtuvo del mismo campo agrícola dónde se obtuvo el suelo. La siembra del janamargo se realizó el 19 de

diciembre de 2018, con sembradora a una densidad de 3 cm entre semillas (400,000 semillas/ha). El riego del cultivo de janamargo fue por goteo cada 12 días durante 8 horas y creció durante 15 semanas. Se tomaron muestras de janamargo para su análisis de nutrientes (Nt y Pt) en el tejido vegetal aéreo y radical (mezclado) previo a su incorporación en el suelo y se puso a secar en un horno durante 48 horas a 70°C para determinar el peso seco. Así mismo, se determinó la cantidad de materia orgánica de janamargo en 1 m² de suelo a 20 cm de profundidad para determinar la cantidad que se usó en los tratamientos con incorporación de materia orgánica. Se mezcló 100 g de suelo y los 450 mg de material vegetal seco y molido de janamargo, de los cuales 250 mg corresponden de la parte aérea y 200 mg de raíz. A los tratamientos sin AV sólo se les agregó los 100 g de suelo sin material orgánico del janamargo.

2.2.4 Fertilización mineral

La fertilización mineral en el suelo de las UE en los tratamientos correspondientes con NPK fue suministrada en soluciones líquidas y en una sola dosis al inicio de la incubación. La dosis de la fertilización en los 100 g de suelo para el N fue con 20 mg de NH₄NO₃ y para el P fue con 10 mg de KH₂PO₄ y fue determinada de acuerdo a la dosis usada para el crecimiento del maíz en los experimentos de invernadero. En los tratamientos testigo sin NPK sólo se regó con agua.

2.2.5 Concentración de N y P en material vegetal de janamargo

A las muestras del janamargo con la materia orgánica de la parte aérea y radical mezclada se les determinó la concentración de Nt y Pt por medio de una digestión ácida con H₂SO₄, H₂O₂, K₂SO₄ y CuSO₄ a 360°C y posteriormente medido por colorimetría. El N fue determinado usando el

método de extracción con digestión ácida Kjeldahl (Bremmer, 1996) y los extractos fueron filtrados para ser medidos (Weatherburn, 1967); mientras que el P se realizó mediante una reducción con ácido ascórbico y se midió como fosfomolibdeno (Murphy y Riley, 1962). La lectura de los extractos se realizó en el Autoanalizador BRAN LUEBBE (Norderstedt, Germany).

2.2.6 Respiración microbiana

La determinación del CO₂-C emitido se llevó a cabo utilizando trampas con 10 mL de NaOH 1N. Estas trampas fueron reemplazadas a los 1, 4, 8, 12, 16 y 19 días de incubación. Se añadieron 5 mL de BaCl₂ 1.5N en cada trampa para precipitar el Na₂CO₃ en BaCO₃ y así cuantificar el NaOH residual con HCl 1N y fenoftaleína como indicador (Coleman *et al.*, 1978). La tasa de respiración microbiana fue calculada en CO₂-C μg C g/d.

2.2.7 Nutrientes en el suelo

A las muestras de suelo húmedo se les midió la concentración de NO₃⁻ y NH₄⁺ disueltos y se les determinó el pH con un potenciómetro (5 g / 50 ml), así como el porcentaje de humedad. El NO₃⁻ y NH₄⁺ fueron extraídos con una solución 1 N KCl, posteriormente los extractos fueron filtrados con papel Whatman No. 1 y medidos por colorimetría usando el método fenol-hipoclorito (Robertson *et al.*, 1999).

2.2.8 Análisis estadísticos

Para el análisis de datos se usaron análisis de varianza (ANDEVA) factorial de dos vías. Usando

la prueba de Levene para verificar la homocedasticidad en todos los tratamientos. Posterior al ANDEVA, para evaluar si existían diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó una prueba de múltiples rangos utilizando el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel del 95% de confianza. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico StatGraphics Centurion XV Versión 15.2.06.

2.3 Resultados

2.3.1 Biomasa y nutrientes incorporados con el janamargo

La concentración de N en el tejido aéreo y de raíz mezclado del Janamargo fue de 32.31 mg/g. En total, se incorporaron 14.54 mg de N en 100 g de suelo. Por su parte, la concentración de P en el tallo y raíz mezclados de janamargo fue de 4.28 mg/g. En total, se incorporaron 1.93 mg de P en 100 g de suelo.

Tabla 1. Valores p de las variables en la ANOVA de dos vías con los diferentes factores. Valor-p* ($\alpha = 0.05$).

Factor	Respiración microbiana	NH ₄ ⁺	NO ₃ ⁻	NH ₄ ⁺ / NO ₃ ⁻
A: Abono Verde	*	**	*	**
B: NPK	**	0.165	**	**
A × B	0.268	0.321	**	*

*, p < 0.001; ** p < 0.0001

2.3.2 Actividad microbiana

La incorporación del material orgánico del janamargo incrementó la mineralización potencial de C (CO₂-C) (Fig. 1a). Del mismo modo, la aplicación de NPK tuvo efectos significativos en la

mineralización acumulada de C (Fig. 1b). El tratamiento con mayor respiración acumulada (con Janamargo y con NPK) tuvo en promedio hasta 329% más CO₂-C emitido acumulado que el tratamiento sin materia orgánica y sin NPK. No hubo interacción entre los factores (Tabla 1).

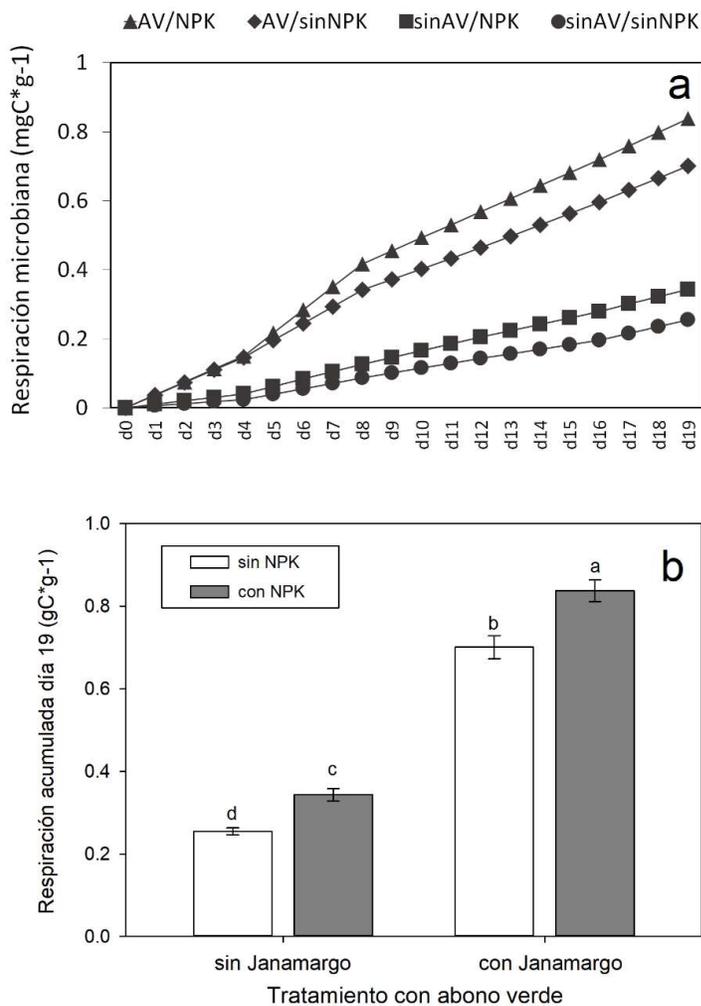


Figura 1. Gráfico de la respiración microbiana durante la incubación (a) mostrando la respiración diaria usando el promedio de respiración entre intervalos. También se muestra el CO₂-C total emitido después de 19 días de incubación en los diferentes tratamientos (b). Factores: Abono Verde (sin Janamargo, con Janamargo incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher (P < 0.05).

2.3.3 Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH_4^+ , NO_3^-)

Al principio del experimento la concentración de NH_4^+ disponible en el suelo fue de 3.80 $\mu\text{g/g}$, mientras que de NO_3^- disponible en el suelo fue de 85.50 $\mu\text{g/g}$. No obstante, después de la incorporación y descomposición del janamargo en el suelo y la incubación, la concentración de NH_4^+ y NO_3^- disponibles en el suelo fue significativamente diferente entre tratamientos.

Amonio. La concentración de $[\text{NH}_4^+]$ en el suelo después de la incubación fue significativamente mayor en los tratamientos con AV incorporado respecto a los que no tenían AV (Figura 2a). En los tratamientos con Janamargo aumentó la concentración de amonio respecto al inicio del experimento y tuvieron en promedio el triple de NH_4^+ disponible en el suelo respecto a los tratamientos sin materia orgánica. El tratamiento con mayor concentración de amonio en el suelo (con janamargo y sin NPK) tuvo en promedio hasta 391% más NH_4^+ en el suelo (6.46 $\mu\text{g/g}$) que el tratamiento sin materia orgánica de Janamargo y con NPK (1.91 $\mu\text{g/g}$). Por su parte, la adición de NPK en el suelo no tuvo efectos en la $[\text{NH}_4^+]$ al final del experimento y no hubo interacción entre factores (Tabla 1).

Nitrato. La incorporación de la materia orgánica del Janamargo tuvo efectos significativos en la concentración de NO_3^- en el suelo después del proceso de descomposición de la materia orgánica y la respiración microbiana (Tabla 1). La concentración de nitrato en el suelo fue bajos al final del experimento y además fue menor a su concentración inicial., salvo el maíz en el tratamiento donde no se incorporó la materia orgánica del janamargo pero si se aplicó NPK (Fig. 2b). En este tratamiento hubo una concentración de NO_3^- disponible en el suelo (94.11 $\mu\text{g/g}$) 259% mayor a los otros tratamientos. Por su parte, hubo interacción entre factores “AV \times NPK” (Tabla 1), donde la adición de NPK en el suelo sólo tuvo incremento en la concentración de NO_3^- al final del experimento en los tratamientos donde no se incorporó material orgánico del janamargo.

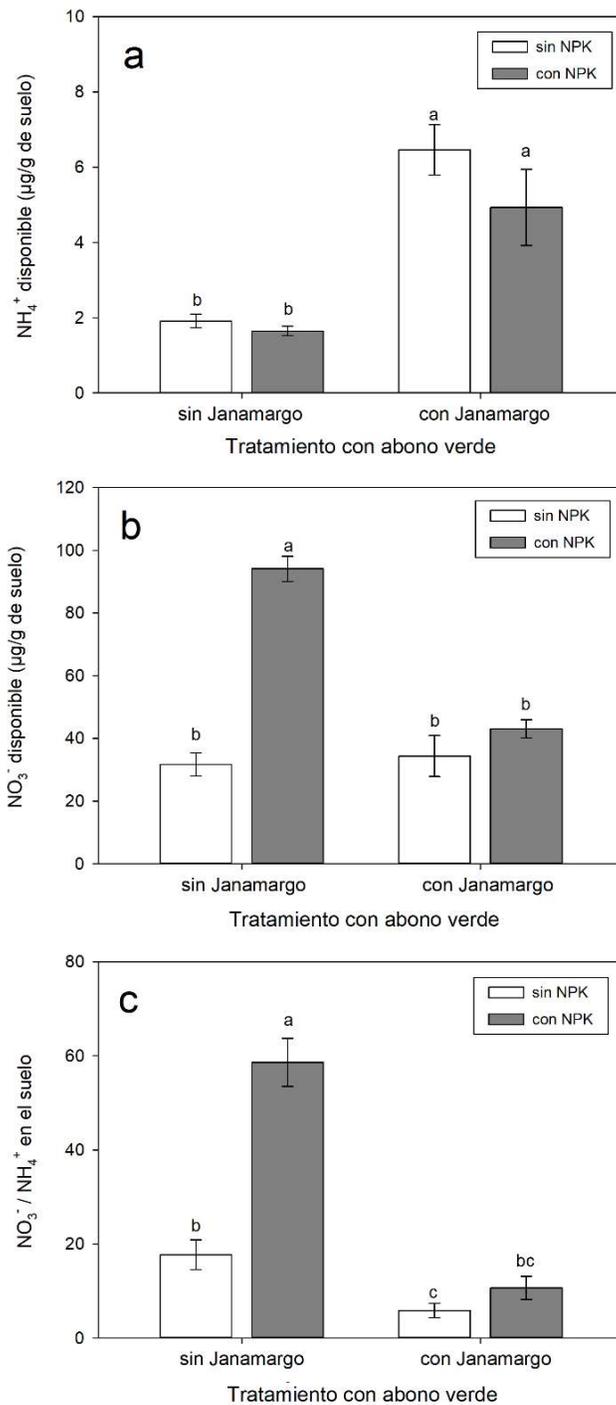


Figura 2. Interacción entre factores Abono Verde \times NPK, con los promedios de la concentración de NH_4^+ (a) y NO_3^- (b) disponibles en el suelo después de 19 días, así como de la relación $\text{NH}_4^+ / \text{NO}_3^-$ (c). Factores: Abono Verde (sin Janamargo, con Janamargo incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Relación Nitrato/Amonio. La incorporación de materia orgánica tuvo efectos significativos en la relación nitrato/amonio en el suelo y el patrón fue muy similar al de la concentración de NO_3^- en el suelo después la incubación (Tabla 1). En general, la nitrificación, que puede ser expresada con los valores de la relación nitrato/amonio en el suelo, presentó niveles bajos al final del experimento, a excepción del tratamiento en el que no se incorporó materia orgánica del janamargo y si se aplicó fertilización con NPK (Fig. 2c), donde se promovió la nitrificación hasta cinco veces más que en los otros tratamientos. Al igual que con el nitrato, hubo interacción entre factores “AV \times NPK” (Tabla 1), donde la adición de NPK en el suelo sólo incremento la nitrificación al final del experimento en los tratamientos donde no se incorporó material orgánico del janamargo.

2.4 Discusión de resultados

2.4.1 Actividad microbiana

Al igual que otros estudios que usan la respiración aeróbica medida como el dióxido de carbono emitido por el suelo como parámetro para evaluar la actividad microbiológica edáfica (Zucconi y Bertoldi, 1987; Vig et al., 1999; Antil et al., 2014), en este estudio observamos que la incorporación de materia orgánica es fundamental para fomentar la actividad de la microbiota edáfica medida por medio de la mineralización del C por parte de la comunidad microbiana del suelo, similar a lo reportado en otro estudio (Gutiérrez-Núñez, 2017). Para el aumento de la respiración microbiana, la incorporación de materia orgánica fue más importante que la fertilización mineral, ya que el NPK sólo aumentó un poco la actividad microbiana respecto a los efectos de la materia orgánica. Esto nos sugiere que en este suelo, el recurso limitante es la materia orgánica y no los nutrientes disponibles en el suelo.

Los componentes del material orgánico del janamargo tienen diferencias estequiométricas (C/N) entre sus componentes (parte aérea y radical). Si consideramos que las raíces representan cerca del 30% de la biomasa total (Sainju *et al.*, 2005), y además tienen una relación C/N más alta y una mayor cantidad de lignina, que las hace más recalcitrantes respecto a la parte aérea y de descomposición más lenta (Puget y Drinkwater, 2001), se esperaría que la liberación de nutrientes se diera principalmente en dos pulsos debido a esa diferencia. En ese sentido, es de destacar que durante el proceso de descomposición de la materia orgánica se observó un aumento rápido en la respiración microbiana entre el día 4 y el día 8, y después el incremento de la respiración fue más lento. Es probable que sea el primer pulso de la despolimerización y mineralización de la materia orgánica aérea más lábil (cómo las hojas) y, a diferencia de otros estudios, los resultados mostraron que hubo un aumento constante en la respiración (Jani *et al.*, 2016) y no hubo un segundo pulso proveniente de la descomposición del material más recalcitrante de las raíces. Esto nos sugiere que la descomposición del resto del material orgánico se da de manera constante y no en un segundo pulso. En contraparte, en los tratamientos donde no se incorporó material orgánico del janamargo se presentó una respiración constante y sin aumento en su actividad a lo largo de todos los días del experimento.

Las raíces de janamargo tienen una relación C/N de alrededor de 14 (Jani *et al.*, 2016) y las hojas alrededor de 10 (Radicetti *et al.*, 2017), lo que podría representar un primer pulso en la liberación de nutrientes y después una liberación más lenta. Algunos estudios de campo han mostrado que, a las 8 semanas se ha mineralizado más de la mitad de la materia orgánica de la parte aérea (Schomberg y Endale, 2004), y que la parte radical presenta una mineralización más tardada, conservando el 25% del N en su biomasa a las 16 semanas (Jani *et al.* 2016), y puede seguir en este proceso de manera más lenta y constante hasta por 20 semanas (Quemada y Cabrera, 1995).

2.4.2 Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH_4^+ , NO_3^-)

Los resultados de la disponibilidad de nutrientes en el suelo al final de experimento nos mostraron que la menor concentración de nutrientes en los tratamientos donde se incorporó el material orgánico del janamargo nos sugieren que hay una inmovilización de nutrientes de la materia orgánica en los microorganismos del suelo que respiran y se están reproduciendo al incrementar la descomposición, despolimerización y mineralización de la materia orgánica.

Amonio. El amonio en general se suele encontrar en concentraciones bajas debido a que este compuesto nitrogenado rápidamente se puede transformar por diversos procesos de nitrificación y además es la fuente más accesible de nitrógeno para la mayoría de los microorganismos. No obstante, se puede observar que en los tratamientos donde se incorporó la materia orgánica hubo un incremento de más del doble de la concentración de NH_4^+ disponible en el suelo. Ésta situación nos sugiere que además de incrementarse la concentración de amonio en el suelo con la incorporación de materia orgánica, la descomposición de la misma representa una a fuente de amonio constante para los microorganismos que continúan en el proceso de descomposición del material orgánico.

Nitrato. Por su parte, la concentración de nitrato en el suelo al final del experimento es menor a la inicial en todos los a excepción del tratamiento donde no se incorporó materia orgánica. En el tratamiento sin AV y con NPK, al no haber incorporado materia orgánica que fomentara la respiración microbiana los nitratos disponibles en el suelo no fueron ocupados por la microbiota, por lo que, durante la incubación la mayoría de las diferentes formas disponibles de nitrógeno, incluyendo el amonio suministrado, se fueron a procesos de nitrificación aumentando la concentración de NO_3^- disponible en el suelo.

2.5 Conclusiones

La incorporación de materia orgánica en el suelo con abonos verdes leguminosos con una buena calidad química, con baja relación C/N y L/N, y con una gran capacidad de asociación con BFN, tienen diversos efectos en las propiedades bioquímicas del suelo. Principalmente aumentan la respiración microbiana y actividad de la microbiota edáfica y se fomenta el reciclaje de nutrientes en el suelo.

La materia orgánica de la parte aérea del janamargo, que está más nitrogenada, se descompone rápidamente y la disponibilidad de sus nutrientes liberados puede estar principalmente ocupada para el mantenimiento de la microbiota encargada de la mineralización y, por tanto, se quede inmovilizada y funcione como una inversión inicial de nutrientes para el mantenimiento de la microbiota edáfica. Por su parte, los nutrientes del material orgánico de las raíces, que al ser más recalcitrantes y presentar una mineralización más lenta y constante, son liberados posteriormente y podrán ser usados para el siguiente cultivo en rotación. Cuando se descomponga todo el material orgánico, vendrá un decaimiento de la microbiota encargada de la descomposición y sucederá la mineralización de los nutrientes contenidos en estos microorganismos. Sin embargo es necesario explorar más en el estudio del material orgánico del janamargo y sus efectos a largo plazo.

Agradecimientos

Agradecemos al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo al estudiante David A. Ortiz-Salgado (beca número 447991). También queremos agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por los fondos del proyecto de ciencia

básica 179319. Finalmente queremos extender los agradecimientos a Rodrigo Velázquez Durán por el apoyo técnico en el Laboratorio de Biogeoquímica de suelos.

2.6 Referencias

- Antil R., Raj D., Abdalla N. y Inubushi K. 2014. *Physical, Chemical and Biological Parameters for Compost Maturity Assessment: A Review. Composting for Sustainable Agriculture*. Springer, pp. 83–101.
- Becker M., Ladha J., Simpson I. y Ottow J. 1994. Parameters affecting residue N mineralization in flooded soils. *Soil Science Society of America Journal*, **58**:1666–1671.
- Bremner, J. 1996. Nitrogen-total. In: Spark D. Page A., Summer M., Tabatabai M., Helmke P. (Eds.), *Methods of soil analyses part 3: chemical analyses*. Soil Science Society of America, Wisconsin, pp. 1085–1121.
- Chaves B., De Neve S., Hofman G., Doeckx P. y Van Cleemput O. 2004. Nitrogen mineralization of vegetable root residues and green manures as related to their (bio)chemical composition. *European Journal of Agronomy*, **21**:161–170.
- Cherr C., Scholberg J. y McSorley R. 2006. Green manure approaches to crop production: A synthesis. *Agronomy J.* **98**:302–319.
- Coleman D., Anderson R., Cole C., Elliott E., Woods L. y Campion M. 1978. Trophic interactions in soils as they affect energy and nutrient dynamics. IV. Flows of metabolic and biomass carbon. *Microb. Ecol.* **4**:373–380.
- De Neve S. y Hofman G. 1996. Modelling N mineralization of vegetable crop residues during laboratory incubations. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**:1451–1457.
- Delgado-Baquerizo M., Maestre F., Reich P., Jeffries T., Gaitan J., Encinar D. y Singh B. 2016.

- Microbial diversity drives multifunctionality in terrestrial ecosystems. *Nature communications*, **7**:10541.
- Fox R., Myers R. y Vallis I. 1990. The nitrogen mineralization rate of legume residues in soil as influenced by their polyphenol, lignin, and nitrogen contents. *Plant and soil*, **129**(2):251–259.
- García E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación de Köpen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México, 90 pp.
- Gutiérrez-Núñez M. 2017. Impactos colaterales del uso de plaguicidas a los microorganismos promotores del crecimiento vegetal en agroecosistemas. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México. Instituto de Investigaciones en Ecosistemas. Morelia México. 80 pp.
- Finn D., Kopittke, P. M., Dennis, P. G., y Dalal, R. C. 2017. Microbial energy and matter transformation in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **111**:176–192.
- INEGI. 1979. Carta de edafología, Cuitzeo E14A13, scale 1:50 000; Carta de edafología, Morelia E14A23, scale 1:50 000.
- Iyyemperumal K. y Shi W. 2008. Soil enzyme activities in two forage systems following application of different rates of swine lagoon effluent or ammonium nitrate. *Applied Soil Ecology*, **38**:128–136.
- Jani A., Grossman J., Smyth T., Hu S. 2016. Winter legume cover-crop root decomposition and N release dynamics under disking and roller-crimping termination approaches. *Renew. Agric. Food Syst.* **31**:214–229.
- Lal R. 2010. Managing soils and ecosystems for mitigating anthropogenic carbon emissions and advancing global food security. *BioScience*, **60**:708–721.

- Lemanceau P., Maron P., Mazurier S., Mougel C., Pivato B., Plassart P. y Wipf D. 2015. Understanding and managing soil biodiversity: a major challenge in agroecology. *Agronomy for sustainable development*, **35**:67–81.
- Lundgren J. y Fergen J. 2011. Enhancing predation of a subterranean insect pest: a conservation benefit of winter vegetation in agroecosystems. *Applied Soil Ecology*. **51**:9–16.
- Murphy J., Riley J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta*, **27**:31–36.
- Power A. 2010. Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **365**:2959–2971.
- Puget P. y Drinkwater L. 2001. Short-term dynamics of root-and shoot-derived carbon from a leguminous green manure. *Soil Science Society of America Journal*, **65**:771–779.
- Quemada M. y Cabrera M. 1995. Carbon and nitrogen mineralized from leaves and stems of four cover crops. *Soil Science Society of America Journal*, **59**:471–477.
- Radicetti E., Campiglia E., Marucci A., y Mancinelli R. 2017. How winter cover crops and tillage intensities affect nitrogen availability in eggplant. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **108**:177–194.
- Robertson, P., Coleman, D., Bledsoe, C., Sollins, P. 1999. Standard soil methods for long-term ecological research (LTER). University Press, Oxford, New York, pp. 258-271.
- Ryan M., Mirsky S., Mortensen D., Teasdale J. y Curran W. 2011. Potential synergistic effects of cereal rye biomass and soybean planting density on weed suppression. *Weed Science* **59**:238–246.
- Sainju U., Whitehead W. y Singh B. 2005. Biculture legume–cereal cover crops for enhanced biomass yield and carbon and nitrogen. *Agronomy journal*, **97**:1403–1412.
- Schipanski M., Barbercheck M., Douglas M., Finney D., Haider K., Kaye J., Kemanian A.,

- Mortensen D., Ryan M., Tooker J. y White C. 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, **125**:12–22.
- Schipanski M. y Drinkwater L. 2011. Nitrogen fixation of red clover interseeded with winter cereals across a management-induced fertility gradient. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **90**:105–119.
- Schomberg H. y Endale D. 2004. Cover crop effects on nitrogen mineralization and availability in conservation tillage cotton. *Biology and fertility of soils*, **40**:398–405.
- Schomberg H., Endale D., Calegari A., Peixoto R., Miyazawa M. y Cabrera M. 2006. Influence of cover crops on potential nitrogen availability to succeeding crops in a Southern Piedmont soil. *Biology and Fertility of Soils*, **42**:299–307.
- Tejada M., González J., García-Martínez A y Parrado J. 2008. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *Bioresource Technology*, **99**:1758–1767.
- Thorup-Kristensen K., Magid J., Jensen, L.S., 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Advances in Agronomy*, **79**:227–301.
- Tonitto C., Davi M. y Drinkwater L. 2006. Replacing bare fallows with cover crops in fertilizer-intensive cropping systems: a meta-analysis of crop yield and N dynamics. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **112**:58–72.
- Trevors J.T., 1984. Dehydrogenase activity in soil. A comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology and Biochemistry*, **16**:673–674.
- Vig K., Singh D., Agarwal H., Dhawan A. y Dureja P. 1999. Effect of repeated pesticide application on soil properties in cotton fields. In *Impact of long term pesticide usage on soil properties using radiotracer techniques* (pp. 119-128). Austria: International Atomic energy agency.
- Weatherburn, M.W., 1967. Phenol-hypochlorite reaction for determination of ammonia.

Zucconi, F., y De Bertoldi M. 1987. Compost specifications for the production and characterization of compost from municipal solid waste. In De Bertoldi, M., M.P. Ferranti, P. L'Hermite, F. Zucconi (eds.), *Compost: Production, quality and use* (pp. 30-50). Essex, UK: Elsevier Applied Science.

CAPÍTULO 3

SOIL PHYSICAL DISTURBANCE REDUCES MAIZE GROWTH, NUTRITION AND MYCORRHIZA FORMATION IN A GREEN MANURE ROTATION WITH VETCH

David A. Ortiz-Salgado, Felipe García-Oliva, Alejandro Alarcon y John Larsen



Soil physical disturbance reduces maize growth, nutrition, and mycorrhiza formation in a green manure rotation with vetch

David A. Ortiz-Salgado^{a,c}, Felipe García-Oliva^a, Alejandro Alarcón^b, John Larsen^{a,*}

^a Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro 8701, Colonia Ex Hacienda de San José de la Huerta, 58190, Morelia, Michoacán, Mexico

^b Posgrado de Edafología, Colegio de Postgraduados, Carretera México-Texcoco km 36.5, Montecillo, 56230, Texcoco, Estado de México, Mexico

^c Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México, Unidad de Posgrado, Ciudad Universitaria, Delegación Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Crop rotation
Cover crops
Tillage
Mineral fertilization
Arbuscular mycorrhizal fungi

ABSTRACT

Green manure crops such as vetch (*Vicia sativa* L.) and their association with plant growth-promoting microorganisms like arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and diazotrophic bacteria are known to improve soil fertility and crop nutrition in agroecosystems. In a greenhouse pot experiment with a fully factorial design, we investigated the effects of green manure with vetch (incorporated or cut leaving the soil undisturbed), soil disturbance simulating a tillage event (without and with) and mineral fertilization (without and with NPK) on the abundance of available soil nutrients (NO_3^- , NH_4^+ and HPO_4^{2-}), maize growth and nutrient content (N and P), and maize mycorrhiza formation by native AMF. First vetch was grown for 10 weeks and then left to mineralize for 12 weeks incorporated or not into the soil. Then before maize sowing, another soil-disturbance event was performed (with and without) and finally maize was grown for 18 weeks without and with NPK fertilization. Main results showed that the amount of soil NO_3^- and HPO_4^{2-} increased substantially after the green manure mineralization before maize sowing, though with lower values after green manure soil incorporation, compared to that of the treatment without soil incorporation. Green manure soil incorporation reduced the final total maize dry weight biomass without NPK fertilization, but when combined with NPK green manure soil incorporation resulted in the highest final total maize dry weight biomass. However, type of green manure management had no effects on the other maize plant variables measured nor AMF root colonization. On the contrary, soil disturbance before maize sowing resulted in decreased AMF root colonization, cob dry weight, and cob N and P content. In conclusion, our results show that soil physical disturbance caused alterations in the plant-microbe-soil dynamics in the present vetch-maize rotation resulting in reduced maize growth, nutrition, and mycorrhiza formation.

1. Introduction

The increased global food demand has promoted the intensive use of inorganic fertilizers resulting in soil fertility loss and eutrophication of water bodies (Tillman et al., 2002). Searching for agricultural systems with less environmental impact, Drinkwater and Snapp (2002) suggested a paradigm change in crop fertilization with organic fertilizers and management of beneficial rhizosphere microorganisms. This paradigm is based on nutrient storage in dead organic matter and in the living soil biota to reduce soil nutrient loss during C, N and P recycling (Conley et al., 2009; Drinkwater et al., 2017).

Green manures are normally grown as a pre-crop that are incorporated into the soil before the main crop and then left for a period to *in-*

situ decompose before sowing the main crop, but the green manures can also be cut and left on top of the soil without disturbing the soil (Cherr et al., 2006). In both cases, the nutrients are stored and recycled in the living soil biomass and slowly released to the soil solution and thus available for the next crop. Also, it is well known that green manures offer a broad range of ecosystem services to agroecosystems, that besides biological crop fertilization includes natural pest regulation and soil carbon storage (Schipanski et al., 2014), which reduce the need for external inputs of mineral fertilizers and pesticides (Robacer et al., 2016).

However, agricultural practices such as tillage and mineral fertilization may affect these benefits of green manures (Mazzonzini et al., 2011). Conventional tillage increases the mineralization of the most

* Corresponding author.

E-mail address: jlarsen@iies.unam.mx (J. Larsen).

<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100423>

Received 3 June 2021; Received in revised form 19 August 2021; Accepted 20 August 2021

Available online 21 August 2021

2452-2198/© 2021 Elsevier B.V. All rights reserved.

labile fractions of organic matter, initially increasing the availability of soil nutrients, but also increases soil erosion (Ramos et al., 2010). No-till systems improve water and nutrient use efficiency (Scopel et al., 2001), reduce the soil organic matter decomposition rate and thereby increase the soil organic matter content, promoting soil nutrient storage (Mazzone et al., 2011; Abdalla et al., 2014). On the contrary, mineral fertilization has been found to increase soil organic matter decomposition and thus increase the content of soil nutrients (Paustian et al., 1992; Halvorson et al., 2002; Jagadamma et al., 2007; Reid, 2008).

Maize production with legumes as green manure offers a strategy for incorporating N fixed by its rhizobia associations (Wahbi et al., 2016), and may also increase the AMF soil inoculum potential before the main maize crop (Gavito and Miller, 1998), that may lead to improved soil nutrient and water use efficiency due to both symbiotic associations.

AMF are normally abundant and diverse in agroecosystems, where they can promote crop nutrition via their external mycelium that transfer nutrients such as especially P and N from soil to the plant (Smith and Smith, 2011). AMF are also known to modulate C, N and P cycles in terrestrial ecosystems (Veresoglou et al., 2011; Larsen et al., 2015) and to alleviate crop stress from abiotic and biotic factors (Gianinazzi et al., 2010; Fester and Sawers, 2017).

Nevertheless, the potential benefits of AMF are often compromised with different agricultural practices such as monoculture, tillage, excessive fertilization, and pesticide use (Larsen et al., 2015; Finn et al., 2017; Ryan and Graham, 2018).

Soil physical disturbance like that of conventional tillage negatively affect AMF communities reducing their abundance, diversity, and functions (Miller et al., 1995; Gavito and Miller, 1998; Boddington and Dodd, 2000; Jansa et al., 2002; Alguacil et al., 2014), but information on how soil disturbance with crop rotation and green manure soil incorporation affect AMF and their interactions with the main crop, yet remains to be further explored (Sorensen et al., 2005; Njeru et al., 2014; Bowles et al., 2016).

There are many advantages of using legumes as green manure compared to that of other plants (Kuo et al., 2001), and the production of maize with legumes through intercropping or rotations could be a strategy to incorporate the N fixed by the legume due to its symbiotic association with rhizobia (Wahbi et al., 2016). Furthermore, mycorrhizal associations in legumes used as green manure can increase the subsequent colonization of AMF in maize (Gavito and Miller, 1998), which may lead to an improved crop benefit from AMF. Understanding the effect of agricultural practices such as tillage and mineral fertilization on rotations with green manures could contribute to the identification of management strategies that optimize the benefits of AMF in crop production.

Here we investigated the effects of soil physical disturbance and NPK fertilization in a vetch-maize rotation under greenhouse conditions on maize growth and nutrition (N and P), mycorrhiza formation and soil nutrient availability (NO_3^- , NH_4^+ and HPO_4^{2-}). We tested the hypothesis that soil disturbance in terms of green manure soil incorporation will reduce AMF root colonization and hence growth and nutrition of the subsequent maize crop, which will be further pronounced if another soil disturbance event is performed before maize sowing.

2. Materials and methods

2.1. Experimental design

A fully factorial randomized experiment was set up with three factors: 1) Green manure with two levels (incorporated into the soil or not incorporated into the soil); 2) Soil physical disturbance simulating tillage with two levels (with and without) and 3) Mineral fertilization with NPK (with and without). Each of the 8 treatments had five replicates with a total of 40 experimental units.

2.2. Soil

The soil was collected from an agricultural field in Santiago Undameo, located in Morelia, Michoacán, Mexico ($19^\circ 41' 13''$ N $101^\circ 14' 17''$ W). The climate of this region is temperate subhumid with mean annual temperature of 20°C and with a mean total annual precipitation of 800 mm concentrated from May to October and with a dry season extending from November to April (Cw₁; García, 2004). The soil is a chromic Luvisol (WRB), with a sandy clay loam soil texture (57.5%, 17.2% and 25.3% of sand, silt and clay, respectively), with an organic matter content of 2.1%, pH 5.7, and a concentration of $8.79\ \mu\text{g g}^{-1}$ and $9.19\ \mu\text{g g}^{-1}$ of phosphorus and nitrogen available in the soil, respectively. Historically, this soil has been cultivated with maize during more than 30 years (INEGI, 1979).

2.3. Experimental set-up

The experiment was performed under greenhouse conditions from October 2016 to September 2017. Three kilograms of soil was used and placed in plastic bags in pots to avoid nutrient leaching. Pots were maintained at 80% of field capacity. Air temperature ranged between 13° and 30°C during the experiment. The experiment had three main phases simulating a vetch-maize crop rotation: 1) Vetch growth (10 weeks), 2) Vetch decomposition in the soil (12 weeks), and 3) Maize growth (18 weeks).

2.4. Vetch growth phase and decomposition

Fifty vetch (*Vicia sativa* L.) seeds were sown in each pot and grown for 10 weeks, after which vetch presented abundant native rhizobia formation. For treatments with green manure incorporated into the soil, all plant tissue (root and shoot) were cut in 2–3 cm pieces and mixed with the soil of the same experimental unit. For the treatment with green manure not incorporated into the soil, the vetch shoots were cut and left on the soil surface without disturbing the soil structure, nor the root system. All pots were then left in the greenhouse for 12 weeks maintaining the soil humidity at 80% field capacity to facilitate decomposition of the green manure.

2.5. Soil physical disturbance before maize sowing

After green manure decomposition and before maize sowing, in all the treatments with soil physical disturbance, the soil was removed and then mixed simulating a tillage event, including the treatments with green manures not incorporated into the soil. For the treatments without soil physical disturbance, the soil was not removed, and the structure of the roots and the soil remained intact.

2.6. Maize growth phase

Three seeds of the maize hybrid genotype Puma (ASGROW®) were sown in each pot from each individual experimental unit, and three days after seedling emergence, only the most vigorous plant was left for further growth. The maize genotype was chosen for this experiment since it performs well in low P soils. Plants were grown for 18 weeks until senescence.

2.7. Mineral fertilization during the maize growth phase

Mineral fertilization was added to the corresponding treatments with mineral NPK fertilization before maize sowing and hereafter supplied weekly with a total of 150 mg N as NH_4NO_3 (supplied in 10 weekly doses) and 75 mg P as KH_2PO_4 (supplied in three weekly doses).

2.8. Plant growth parameters of vetch

To quantify the biomass and amount of N and P from the vetch green manure added to the soil, a complementary experiment was performed with vetch grown for 10 weeks with the same setup and plant growth conditions as for the main experiment. At harvest, shoot and roots were separated and the dry weight was measured after two days drying at 70 °C. The dry shoot and root samples were ground and hereafter the content of N and P were analyzed.

2.9. Harvest and analyses

Before starting the experiment (t0), after vetch decomposition (t1) and maize harvest (tf), 50-g soil-samples were taken and kept in darkness at 4 °C until analyses of available soil nutrients (NO_3^- , NH_4^+ and HPO_4^{2-}). NO_3^- and NH_4^+ were extracted with a 1 N KCl solution, and hereafter extracts were filtered through Whatman No. 1 paper and measured with colorimetry using the phenol-hypochlorite method (Robertson et al., 1999). Measurement of HPO_4^{2-} was performed from an extract of a 2 g soil sample with a solution of NaHCO_3 0.5M adjusted at pH 7.0 and then determined colorimetrically (Murphy and Riley, 1962).

At maize harvest, roots were carefully washed free of soil with tap water and then separated from the shoot. Before drying, roots were cut into 5–10 mm segments and mixed in a 2 L container with water to facilitate taking a representative two-g-subsample for AMF root colonization measurement. Then, the shoot and root parts were oven dried for 2 day at 70 °C and weighed.

Measurement of AMF root colonization was performed with the method of McGonigle et al. (1990) after clearing and staining roots according to Kormanik and McGraw (1982), except that acid fuchsin was utilized instead trypan blue dye. AMF structures recorded included arbuscules, vesicles, coils, hyphae, and external mycelium, which are all common AMF structures from field populations of AMF used in the present experiment.

Cob N and P concentration were determined by acid digestion with H_2SO_4 , H_2O_2 , K_2SO_4 and CuSO_4 at 360 °C and subsequent colorimetry. N was determined using the Kjeldahl method (Bremner, 1996), while P was performed by a reduction with ascorbic acid and measured as phosphomolybdate (Murphy and Riley, 1962). The extracts obtained after digestion was read on the Bran + Luebbe AutoAnalyzer (Norderstedt, Germany).

2.10. Statistical analysis

Data were analyzed with three-way factorial analyses of variance (ANOVA). Prior ANOVA, variance homogeneity was verified using Bartlett's test. Post-hoc ANOVA treatment comparisons were performed with LSD test. Correlations were made between the maize variables and AMF colonization. All statistical analyses were performed with Statgraphics Centurion XV version 15.2.06.

3. Results

3.1. Biomass and nutrient content (N and P) incorporated with the vetch (complementary experiment)

Average total dry vetch biomass from each pot was 15.84 g (8.60 g shoot and 7.24 g root). Shoot and root N concentrations were 16.75 mg g^{-1} and 12.75 mg g^{-1} , respectively, resulting in a total of 236 mg of vetch N (144 mg shoot N and 92 mg root N). Shoot and root P concentrations were 4.45 mg g^{-1} and 3.90 mg g^{-1} respectively, resulting in a total of 66 mg of vetch P (38 mg shoot P and 28 mg root P).

Table 1

p values of all variables measured from three-way ANOVA of the factors A (Green manure), B (Soil physical disturbance) and C (NPK) and their factor combinations ($n = 5$).

Variables	A	B	C	A × B	A × C	B × C	A × B × C
Total maize dry weight	0.533	0.097	**	0.435	**	0.634	0.738
Cob dry weight	0.290	*	**	0.602	0.375	0.644	0.641
Cob N content	0.243	*	*	0.672	0.498	0.450	0.541
Cob P content	0.436	*	*	0.484	0.571	0.593	0.642
Soil NH_4^+ after vetch	**	na	na	na	na	na	na
Soil NH_4^+ after maize	0.480	0.291	0.112	0.952	0.482	0.151	0.470
Soil NO_3^- after vetch	**	na	na	na	na	na	na
Soil NO_3^- after maize	0.569	*	0.146	**	0.519	0.474	0.857
Soil HPO_4^{2-} after vetch	**	na	na	na	na	na	na
Soil HPO_4^{2-} after maize	**	0.548	0.846	0.234	0.664	0.539	0.911
Maize AMF root colonization	0.605	**	0.127	0.448	0.784	0.348	0.927

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; na, not analyzed

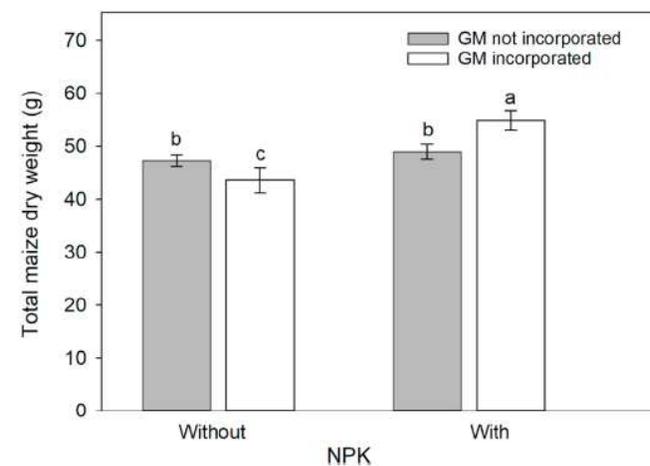


Fig. 1. Factor treatments means from the interaction “Green manure (GM) × NPK” for total maize dry mass weight. Error bars indicate standard error of the mean ($n = 10$). Treatment means with different letters are significantly different.

3.2. Maize plant growth parameters

Significant interactions were observed between green manure (incorporated and non-incorporated) and NPK (without and with), with the highest total maize dry mass weight obtained with green manure soil incorporation in combination with NPK (Table 1, Fig. 1). Significant single factor effects for cob dry mass weight were obtained for the factors soil disturbance and NPK (Table 1). Cob dry mass weight was higher in the treatment without soil physical disturbance compared to that of the treatment with soil physical disturbance (Fig. 2b). Also, application of NPK resulted in higher cob dry mass weight compared to that of fertilized plants (Fig. 2c), whereas the factor green manure had no effect on cob dry mass weight (Fig. 2a).

Similarly, significant single factor effects for cob N and P content were obtained for the factors soil physical disturbance and NPK (Table 1). Cob N and P content was higher with NPK than without NPK fertilization (Fig. 3b and c), and cob N and P content was higher without

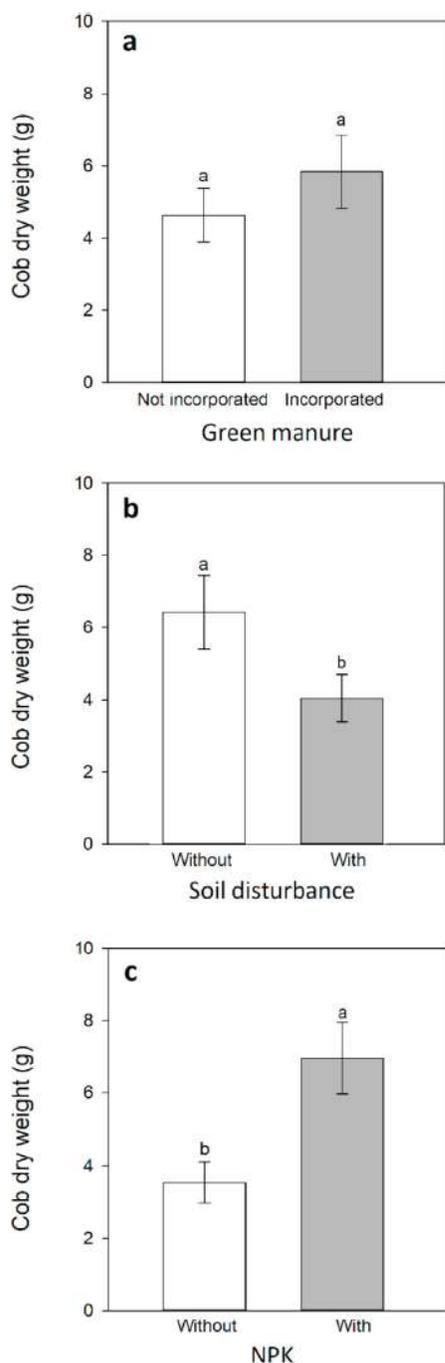


Fig. 2. Cob dry mass weight factor treatment means for the factors a) Green manure (incorporated into the soil and not incorporated into the soil), b) Soil physical disturbance (with and without) and c) NPK (with and without). Error bars indicate standard error of the mean ($n = 20$). Treatment means with different letters are significantly different.

soil physical disturbance than with soil physical disturbance (Fig. 3e and f).

3.3. Soil nutrients (NH_4^+ , NO_3^- and HPO_4^{2-})

The availability of soil nutrients at the beginning of the experiment (t0) was low: NO_3^- ($9.19 \mu\text{g g}^{-1}$ soil), NH_4^+ ($2.07 \mu\text{g g}^{-1}$ soil) and HPO_4^{2-} ($8.79 \mu\text{g g}^{-1}$ soil). However, before maize sowing (after vetch decomposition) the available NO_3^- (Fig. 4a) and HPO_4^{2-} (Fig. 5a)



Fig. 3. Total cob N and P content for the factor treatment means for Green manure (a, Nt; b, Pt), Soil physical disturbance (c, Nt; d, Pt) and NPK (e, Nt; f, Pt). Error bars indicate standard error of the mean ($n = 20$). Treatment means with different letters are significantly different.

concentration in the soil was significantly higher with green manure not incorporated than green manure incorporated. Nevertheless, at the end of the experiment (after maize harvest), the concentrations of soil available NO_3^- and HPO_4^{2-} had declined, though soil NO_3^- was still higher than the initial level when the green manure was not incorporated into the soil and without physical soil disturbance (Fig. 4b). In the case of available HPO_4^{2-} , the soil concentrations were still higher than the initial level and higher if green manure was not incorporated (Fig. 5b). Overall, the level of soil NH_4^+ was low throughout the entire crop rotation cycle. After vetch decomposition, a significant green manure effect was observed (Table 1). The amount of soil NH_4^+ without and with green manure soil incorporation was $1.19 \mu\text{g g}^{-1}$ soil and $1.62 \mu\text{g g}^{-1}$ soil, respectively. Final soil NH_4^+ concentration was unaffected by all factors with an average value of $1.6 \mu\text{g g}^{-1}$ soil (Table 1).

3.4. Maize AMF root colonization

AMF root colonization at maize harvest was significantly affected by the factor soil physical disturbance (Table 1), where a reduction was observed with soil disturbance compared to that without soil disturbance (Fig. 6b). No effects of the two other factors green manure

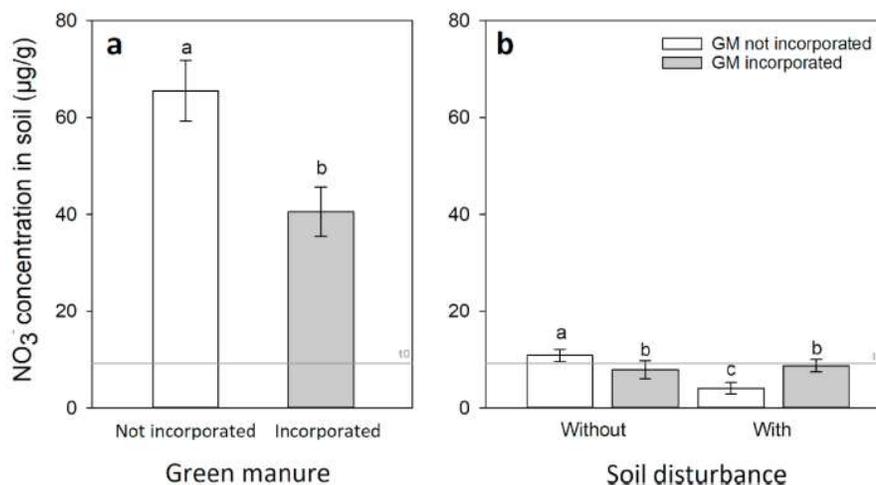


Fig. 4. Soil NO_3^- concentration treatment factor means for the factor Green manure (incorporated into the soil and not incorporated into the soil) before maize sowing (a) and for the “Green manure x Soil physical disturbance” interaction after maize harvest (b). The inserted line t0 represents the soil NO_3^- concentration before vetch sowing. Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different (a, $n = 20$; b, $n = 10$).

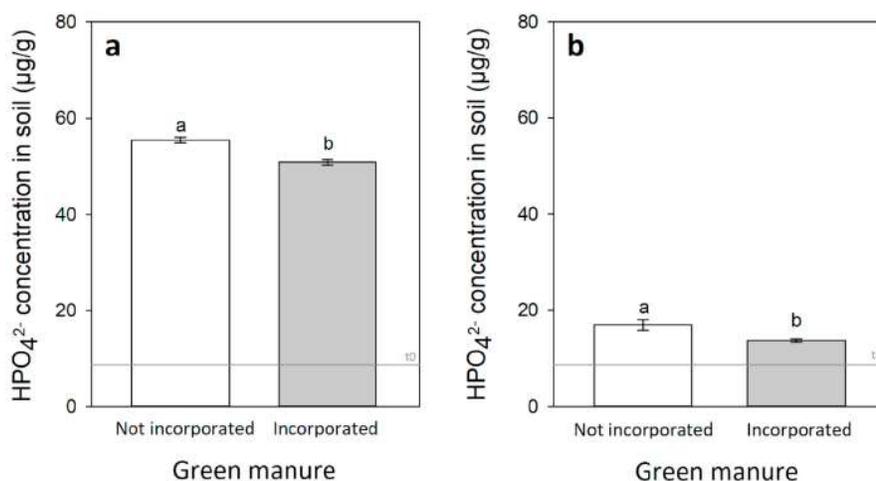


Fig. 5. Soil HPO_4^{2-} concentration treatment factor means for the factor Green manure (incorporated into the soil and not incorporated into the soil) before maize sowing (a) and after maize harvest (b). The inserted line t0 represents the soil HPO_4^{2-} concentration before vetch sowing. Error bars indicate standard error of the mean. Treatment means with different letters are significantly different (a, $n = 20$; b, $n = 20$).

(Fig. 6a) or NPK (Fig. 6c) were observed.

3.5. Correlations between variables measured

Significant positive correlations were observed for all plant variables (total plant dry mass weight, cob dry mass weight, and con N and P content) and no significant correlations were observed for the soil nutrient variables (NH_4^+ , NO_3^- , HPO_4^{2-}) and the other variables measured (results not shown). Significant positive correlations were observed for AMF root colonization and the plant variables total plant- and cob dry weight biomass and cob N content (Table 2).

4. Discussion

Our results showing that green manure soil incorporation reduced the final total maize dry weight biomass without NPK fertilization, confirm our hypothesis, though only partially since green manure soil incorporation had no effects on maize AMF root colonization nor maize N and P nutrition. A possible explanation for this observed reduction in final total maize dry weight may be related to the disruption of the

external mycelium of AMF caused by the green manure management with soil incorporation, resulting in lower performance of AMF with the subsequent maize crop, which however needs to be further addressed with measurements of the AMF soil inoculum potential.

Interestingly, NPK fertilization not only compensated this maize growth reduction from green manure soil incorporation, but further increased final total maize dry weight when combined with green manure soil incorporation, which seems to be related to acceleration of organic matter decomposition (Jagadamma et al., 2007; Tejada et al., 2008).

With respect to the observed reduction in total cob dry weight, and cob N and P content after soil physical disturbance before maize sowing independent of the type of green manure management (incorporated or not) and NPK fertilization, tillage has been reported to increase soil organic matter decomposition and alter soil microbial communities (Mazzoncini et al., 2011; de la Cruz-Ortiz et al., 2020), which may have resulted in competition between maize and associated microorganisms for nutrients such as N (Wang et al., 2020). On the other hand, the observed reduction in maize cob N and P content from soil disturbance before maize sowing coincided with a reduction in AMF root

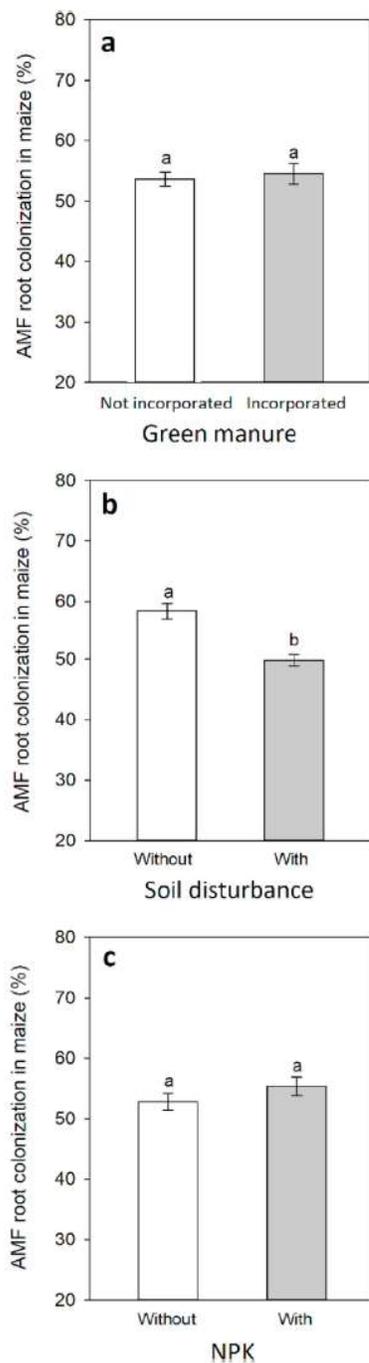


Fig. 6. AMF root colonization factor treatment means for the factors a) Green manure (incorporated into the soil and not incorporated into the soil), b) Soil disturbance (with and without) and c) NPK (with and without). Error bars indicate standard error of the mean ($n = 20$). Treatment means with different letters are significantly different.

colonization, which suggest a possible role of AMF in these effects. This is further supported from the observed significant correlations between AMF root colonization and cop variables except for cop P content. Similar positive correlations between AMF root colonization and maize growth parameters in green manure-maize rotations have been reported (Njeru et al., 2014; Higo et al., 2018).

Such effects on AMF root colonization from soil disturbance leading to reduction in AMF soil inoculum potential and subsequent reduced

Table 2

Correlations (r) between maize AMF root colonization and all other variables measured at the end of the maize growth period (p values in brackets).

Variables	% AMF	
Total dry weight	0.27	(***)
Cob dry weight	0.31	(*)
Cob Nt	0.33	(*)
Cob Pt	0.26	(0.11)
NH ₄ ⁺	0.26	(0.10)
NO ₃ ⁻	0.01	(0.97)
HPO ₄ ²⁻	0.20	(0.22)

*, $p < 0.05$; ***, $p < 0.001$.

nutrient uptake from the mycorrhizal associations, has been reported in other studies also with maize (Schalamuk, 2006; Balota et al., 2014; de la Cruz-Ortiz et al., 2020). Hence in the present study we expected that green manure management as soil incorporation compared to that from cutting the shoot without disturbing the soil would reduce AMF root colonization of the following crop, which was however not the case in the present study, at least not at maize harvest, where this measurement was performed. These results are like that reported by Higo et al. (2020) in a field experiment where vetch green manure management did not affect AMF root colonization in the subsequent maize crop. However, it is important to note that effects from soil disturbance on AMF root colonization has been shown to be more pronounced in the early plant growth phase (Sorensen et al., 2005; García-González et al., 2018).

Green manures can provide substantial soil nutrients both N (Thorup-Kristensen et al., 2003) and P (Karasawa and Takahashi, 2015) as was the case in the present study, where all soil nutrients measured increased substantially after the green manure growth phase and decomposition compared to their initial values.

Soil NH₄⁺ values were low throughout the entire crop cycle. However, this may be related to the time when measurements were made after mineralization. Plants and soil microorganisms easily take up NH₄⁺ (Castro and Whalen, 2016; White et al., 2016), but NH₄⁺ also commonly and rapidly convert to NO₃⁻ via nitrification (Cui et al., 2017). On the other hand, soil NO₃⁻ in the present study had a more dynamic pattern. Initial soil NO₃⁻ was very low, but after the vetch growth phase and decomposition before maize sowing soil NO₃⁻ increased markedly.

Soil disturbance from green manure soil incorporation resulted in lower soil NO₃⁻ and HPO₄²⁻ content than without soil incorporation after the green manure decomposition phase, which is most likely linked with microbial immobilization of these nutrients.

Overall, at the end of the experiment, all soil nutrients examined declined because of plant nutrient uptake and assimilation in maize tissue. However, for HPO₄²⁻ the final soil concentration at maize harvest was higher than the initial soil HPO₄²⁻ value, though highest when the green manure was not incorporated into the soil. This most likely represents a buildup from the green manure (Tejada et al., 2008; Pandey et al., 2017), but may also be related to possible soil acidification after green manure decomposition.

In conclusion, our results show that soil physical disturbance caused alterations in the plant-microbe-soil dynamics in the present vetch-maize rotation resulting in reduced maize growth, nutrition, and mycorrhiza formation. Overall effects from soil disturbance before maize sowing was stronger than the effects from soil disturbance according to green manure management. This information is useful when designing new crop nutrition strategies, though long-term field studies are needed to further explore possible accumulative effects in soil fertility promotion with such vetch green manure-maize rotation.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

We thank the PhD school of Biological Sciences at the National Autonomous University of Mexico (UNAM) and the National Council for Science and Technology (CONACYT) for supporting David A. Ortiz-Salgado (scholarship number 447991). We also thank the National Council for Science and Technology (CONACYT) for funding the basic science project 179319. Finally, we extend our gratitude to Rodrigo Velazquez for technical support.

References

- Abdalla, M., Hastings, M., Helmy, M., Prescher, A., Osborne, B., Lanigane, G., Forristal, D., Killi, D., Maratha, P., Williams, M., Rueangritsarakul, K., Smith, P., Nolang, P., Jones, M., 2014. Assessing the combined use of reduced tillage and cover crops for mitigating greenhouse gas emissions from arable ecosystem. *Geoderma* 223–225, 9–20.
- Alguacil, M., Torrecillas, E., García-Orenes, F., Roldán, A., 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol. Biochem.* 76, 34–44.
- Balota, E., Calegari, A., Nakatani, A., Coyne, M., 2014. Benefits of winter cover crops and no-tillage for microbial parameters in a Brazilian Oxisol: a long-term study. *Agric. Ecosyst. Environ.* 197, 31–40.
- Boddington, C., Dodd, J., 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant Soil* 218, 137–144.
- Bowles, T., Jackson, L., Loeher, M., Cavagnaro, T., 2016. Ecological intensification and arbuscular mycorrhizas: a meta-analysis of tillage and cover crop effects. *J. Appl. Ecol.* 54, 1785–1793.
- Bremner, J., 1996. Nitrogen-total. In: Spark, D., Page, A., Summer, M., Tabatabai, M., Helmk, P. (Eds.), *Methods of Soil Analyses Part 3: Chemical Analyses*. Soil Science Society of America, Wisconsin, pp. 1085–1121.
- Castro, L., Whalen, J., 2016. Ion exchange membranes are sensitive indicators of ammonium and nitrate released from green manures with low C/N ratios. *Eur. J. Soil Biol.* 77, 4–8.
- Cherr, C., Scholberg, J., McSorley, R., 2006. Green manure approaches to crop production: a synthesis. *Agron. J.* 98, 302–319.
- Conley, D., Paerl, H., Howarth, R., Boesch, D., Seitzinger, S., Havens, K., Lancelot, C., Likens, G., 2009. Controlling eutrophication: nitrogen and phosphorus. *Science* 323, 1014–1015.
- de la Cruz-Ortiz, A., Álvarez-Lopezello, J., Robles, C., Hernández-Cuevas, L., 2020. Tillage intensity reduces the arbuscular mycorrhizal fungi attributes associated with *Solanum lycopersicum*, in the Tehuacanepc Isthmus (Oaxaca), Mexico. *Appl. Soil Ecol.* 149, 103519.
- Cui, J., Yu, C., Qiao, N., Xu, X., Tian, Y., Ouyang, H., 2017. Plant preference for NH₄⁺ versus NO₃⁻ at different growth stages in an alpine agroecosystem. *Field Crop. Res.* 201, 192–199.
- Drinkwater, L., Snapp, S., 2002. Nutrients in agroecosystems: rethinking the management paradigm. *Adv. Agron.* 92, 163–186.
- Drinkwater, L., Schipanski, M., Snapp, S., Jackson, L., 2017. Ecologically based nutrient management. *Agroecology and Rural Innovation for Development* 7, 203–257.
- Fester, T., Sawers, R., 2017. Progress and challenges in agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi. *CRC Crit. Rev. Plant Sci.* 30, 459–470.
- Finn, D., Kopittke, P.M., Dennis, P.G., Dalal, R.C., 2017. Microbial energy and matter transformation in agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.* 111, 176–192.
- García, E., 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación de Köpen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México, p. 90.
- García-González, I., Quemada, M., Gabriel, J.L., Alonso-Ayuso, M., Hontoria, C., 2018. Legacy of eight-year cover cropping on mycorrhizae, soil, and plants. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* 181, 818–826.
- Gavito, M., Miller, M., 1998. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant Soil* 198, 185–192.
- Gianinazzi, S., Gollotte, A., Binet, M., van Tuinen, D., Redecker, D., Wipf, D., 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizal ecosystem services. *Mycorrhiza* 20, 519–530.
- Halvorson, A., Wienhold, B., Black, A., 2002. Tillage, nitrogen, and cropping system effects on soil carbon sequestration. *SSSA (Soil Sci. Soc. Am.) J.* 66, 906–912.
- Higo, M., Takahashi, Y., Gunji, K., Isobe, K., 2018. How are arbuscular mycorrhizal associations related to maize growth performance during short-term cover crop rotation? *J. Sci. Food Agric.* 98, 1388–1396.
- Higo, M., Tatewaki, Y., Iida, K., Yokota, K., Isobe, K., 2020. Amplicon sequencing analysis of arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing maize roots in different cover cropping and tillage systems. *Sci. Rep.* 10, 6039.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía), 1979. Carta de edafología, Cuitzeo E14A13, scale 1:50 000. Carta de edafología, Morelia E14A23, scale 1:50 000.
- Jagadamma, S., Lal, R., Hoefl, R., Nafziger, E., Adee, E., 2007. Nitrogen fertilization and cropping systems effects on soil organic carbon and total nitrogen pools under chisel-plow tillage in Illinois. *Soil Tillage Res.* 95, 348–356.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., Frossard, E., 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12, 225–234.
- Karasawa, T., Takahashi, S., 2015. Introduction of various cover crop species to improve soil biological P parameters and P uptake of the following crops. *Nutrient Cycl. Agroecosyst.* 103, 15–28.
- Kormanik, P., McGraw, A., 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck, N. (Ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*. American Phytopathological Society, St Paul, pp. 37–45, 1982.
- Kuo, S., Huang, B., Bembek, R., 2001. Effect of winter cover crops on soil nitrogen availability, corn yield, and nitrate leaching. *Sci. World J.* 2, 22–29.
- Larsen, J., Jaramillo-López, P., Nájera-Rincon, M., González-Esquivel, C., 2015. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 15 (2), 449–463.
- Mazzoncini, M., Bahadur Sapkota, T., Bárberi, P., Antichi, D., Risaliti, R., 2011. Long-term effect of tillage, nitrogen fertilization and cover crops on soil organic carbon and total nitrogen content. *Soil Tillage Res.* 114, 165–174.
- McGonigle, P., Millers, M., Evans, D., Fairchild, G., Swam, J., 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115, 495–501.
- Miller, M., McGonigle, T., Addy, H., 1995. Functional ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Crit. Rev. Biotechnol.* 15, 241–255.
- Murphy, J., Riley, J., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27, 31–36.
- Njeru, E., Avio, L., Sbrana, C., Turrini, A., Bocci, G., Bárberi, P., 2014. First evidence for a major cover crop effect on arbuscular mycorrhizal fungi and organic maize growth. *Agron. Sustain. Dev.* 34, 841–848.
- Pandey, A., Lib, F., Askgaard, M., Olesen, J., 2017. Biological nitrogen fixation in three long-term organic and conventional arable crop rotation experiments in Denmark. *Eur. J. Agron.* 90, 87–95.
- Paustian, K., Parton, W., Persson, J., 1992. Modeling soil organic matter in organic amended and N-fertilized long-term plots. *SSSA (Soil Sci. Soc. Am.) J.* 56, 476–488.
- Ramos, M., Benítez, E., García, P., Robles, A., 2010. Cover crops under different managements vs. frequent tillage in almond orchards in semiarid conditions: effects on soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 44, 6–14.
- Reid, D., 2008. The myth of nitrogen fertilization for soil carbon sequestration. *J. Environ. Qual.* 37, 739–740.
- Robacer, M., Canali, S., Lakkenborg-Kristensen, H., Bavec, F., Grobelenk-Mlakar, S., Jakop, M., Bavec, M., 2016. Cover crops in organic field vegetable production. *Sci. Hortic. (Amst.)* 208, 104–110.
- Robertson, P., Coleman, D., Bledsoe, C., Sollins, P., 1999. *Standard Soil Methods for Long-Term Ecological Research (LTER)*. University Press, Oxford, New York, pp. 258–271.
- Ryan, M., Graham, J., 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytol.* 220, 1092–1107.
- Schalamuk, S., 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Mycologia* 98, 16–22.
- Schipanski, M., Barbercheck, M., Douglas, M., Finney, D., Haider, K., Kaye, J., Kemanian, A., Mortensen, D., Ryan, M., Tooker, J., White, C., 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agric. Syst.* 125, 12–22.
- Scopel, E., Tardieu, G., Edmeades, A., Sebillotte, M., 2001. Effects of Conservation Tillage on Water Supply and Rainfed Maize Production in Semiarid Zones of West-Central Mexico. *NRG. CIMMYT. México D.F.*, p. 24.
- Smith, S.E., Smith, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annu. Rev. Plant Biol.* 62, 227–250.
- Sorensen, J., Larsen, J., Jakobsen, I., 2005. Mycorrhiza formation and nutrient concentration in leek (*Allium porrum*) in relation to previous crop and cover crop management on high P soils. *Plant Soil* 273, 101–114.
- Tejada, M., González, J., García-Martínez, A., Parrado, J., 2008. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *Bioresour. Technol.* 99, 1758–1767.
- Thorup-Kristensen, K., Magid, J., Jensen, L.S., 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Adv. Agron.* 7, 227–302.
- Tillman, D., Cassman, K., Matson, P., Naylor, R., Polasky, S., 2002. Agricultural sustainability and intensive production practices. *Nature* 418 (6898), 671–677.
- Veresoglou, S., Sen, R., Mamolos, A., Veresoglou, D., 2011. Plant species identity and arbuscular mycorrhizal status modulate potential nitrification rates in nitrogen-limited grassland soils. *J. Ecol.* 99, 1339–1349.
- Wahbi, S., Prin, Y., Thioulouse, J., Sanguin, H., Baudoin, E., Maghraoui, T., Duponnois, R., 2016. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities. *Front. Plant Sci.* 7, 1364.
- Wang, X., Hoffland, E., Feng, G., Kuyper, T., 2020. Arbuscular mycorrhizal symbiosis increases phosphorus uptake and productivity of mixtures of maize varieties compared to monocultures. *J. Appl. Ecol.* <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13739>.
- White, C., DuPont, T., Hautauc, M., Hartmand, D., Finney, D., Bradley, B., LaChance, J., Kaye, J., 2016. Managing the trade-off between nitrogen supply and retention with cover crop mixtures. *Agric. Ecosyst. Environ.* 237, 121–133.

CAPÍTULO 4

IMPORTANCIA DE LA ROTACIÓN DE CULTIVOS CON ABONOS VERDES EN LA INTERACCIÓN DEL MAÍZ CON LA MICORRIZA ARBUSCULAR

Resumen

Los abonos verdes leguminosos como el janamargo (*Vicia sativa* L.) representan una importante fuente de N y P orgánico en el agroecosistema, pero también pueden promover el desempeño de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA). En este estudio se investigó el papel de las poblaciones nativas de HMA en la rotación Janamargo-Maíz. Se estableció un experimento en invernadero en macetas con 4 kg de suelo con baja disponibilidad de P, con un diseño factorial completo con tres factores: i) Abono Verde con janamargo (sin AV, AV sin incorporar y AV incorporado), ii) Control de HMA con Carbendazim (sin y con), iii) Fertilización con NPK (sin y con). Fueron 12 tratamientos con 4 réplicas, dando 48 unidades experimentales. El experimento tuvo tres fases: La primera de crecimiento de janamargo durante 10 semanas, después la de descomposición del AV durante 10 semanas y finalmente la de crecimiento del maíz durante 10 semanas. Los resultados muestran que el uso de abono verde incorporado en el suelo reduce la abundancia de biomasa de HMA, comparado con el abono verde que se cortó y dejó en el suelo sin perturbar el suelo. En ambos casos se promovió un incremento en el crecimiento del maíz, pero los tratamientos con fertilización (NPK) y el AV no incorporado en el suelo presentaron los mayores valores. Los AV no tuvieron efectos en la colonización de las raíces por HMA. En general, la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim fue negativa, pero fue menor cuando se usó AV en ambos casos respecto al testigo sin AV. En conclusión, la fertilización con NPK y el janamargo como abono verde mejoraron el crecimiento del maíz, así mismo mitigaron la respuesta de crecimiento negativa del maíz en ausencia de Carbendazim relacionada a las poblaciones nativas de micorrizas.

Palabras clave: *Respuesta de crecimiento a la micorriza, rotación de cultivos, cultivos de cobertura, reciclaje de nutrientes, labranza, fertilización mineral.*

4.1 Introducción

Una de las simbiosis más antiguas en el planeta es la de los HMA con las plantas (Honrubia, 2009). Esta asociación ha demostrado ser de mayor importancia para las plantas terrestres al inicio de su evolución, además actualmente aún juega un papel positivo para las plantas (Honrubia, 2009). Entre los beneficios que aportan los HMA destacan la facilitación de la asimilación de nutrientes de baja movilidad y disponibilidad en el suelo, principalmente el fósforo (P), además, disminuyen la infección de los patógenos, estimulan el crecimiento vegetal, aumentan la tolerancia al estrés hídrico en el suelo (Bethlenfalvay y Linderman, 1992; Smith y Read, 2008; Barrer, 2009; Vannette y Hunter, 2009). Además, los HMA pueden tener un efecto estabilizador en la estructura del suelo incrementando la formación de los agregados (Wilson et al., 2009).

Se ha sugerido que los HMA pueden ser muy importantes en el secuestro de C en el suelo, mitigando las emisiones de CO₂ en suelos agrícolas, ya que, una buena parte de los fotosintatos de la planta huésped se invierte en el crecimiento de los HMA (Solaiman y Saito, 1997). Las plantas micorrizadas pueden aumentar el flujo de fotosintatos de 4% a un 20% a las raíces (Douds et al., 2000). Además, gracias a que los hongos son ricos en N y los HMA son los más abundantes en el mundo, se sugiere que tienen un papel importante en los ciclos globales de N y P (Govindarajulu et al., 2005; Hodge et al., 2010). Sin embargo, las prácticas agrícolas convencionales afectan negativamente a las poblaciones de HMA, así como a la composición de especies y la colonización micorrízica (Kurlle y Pflieger, 1994; Schalamuk, 2006).

Los HMA son microorganismos muy sensibles a las diferentes prácticas agrícolas y, en general, las comunidades microbianas se ven beneficiadas y se promueve su funcionalidad con la diversificación y rotación de cultivos (McDaniel et al., 2014; Finn et al., 2017). En ese sentido, con el cambio de uso de suelo y de la cobertura vegetal (monocultivo vs intercultivo), se puede

modificar la estructura y riqueza de la comunidad de los HMA (Stürmer y Siqueira, 2011) y, en consecuencia, comprometer los beneficios y funciones de estos microorganismos para las comunidades microbianas del suelo (Finn et al., 2017). Ryan y Graham (2018) reportan que las presiones de selección más citadas e investigadas que pueden reducir la diversidad de hongos micorrízicos y la funcionalidad en los agroecosistemas son la labranza, la fertilización masiva y rotaciones de cultivos sin heces o baja diversidad de plantas. Los cambios en la composición de la comunidad fúngica micorrízica y la diversidad genética se han documentado cuando se comparan los sistemas de labranza de alta intensidad y sistemas de labranza de conservación o de menor intensidad, donde se presenta una mayor diversidad en este último sistema (Miller *et al.*, 1995; Boddington y Dodd, 2000; Jansa et al., 2002; Alguacil et al., 2014).

Una técnica agroecológica importante de explorar para mejorar las propiedades del suelo para los cultivos, mantener una alta actividad microbiológica, así como aumentar la nutrición vegetal de los cultivos, es la incorporación los abonos verdes (AV) en el suelo. Los abonos verdes normalmente son usados como precultivo de rotación y son incorporados en el suelo antes del cultivo principal y posteriormente se dejan un tiempo para promover su descomposición y mineralización de la materia orgánica y así liberar los nutrientes en el suelo para el cultivo principal, pero también se pueden sólo cortar y dejar sobre el suelo para evitar disturbio en el suelo (Cherr et al., 2006). Los abonos verdes presentan diversas funciones en los agroecosistemas, destacando sus efectos en las propiedades del suelo, mejorando la estructura y fertilidad del mismo, aumentando la cantidad de materia orgánica, la disponibilidad de nutrientes y la capacidad de retención del agua, y ayudan para la supresión de plantas arvenses (Robacer et al., 2016). Además, son varios los servicios ecosistémicos que proporcionan los agrosistemas manejados con AV (Schipanski et al., 2014).

El uso de AV está muy bien desarrollado en regiones templadas, sin embargo, hay mucho potencial en regiones tropicales. La asociación de la producción maíz con leguminosas mediante rotación de cultivos podría ser una estrategia para incorporar el N fijado por la leguminosa a través de su asociación simbiótica con BFN (Wahbi *et al.*, 2016), y de un mejor uso del P y agua, a través de asociaciones de micorrizas en las leguminosas usadas como AV, ya que se ha demostrado que la rotación de cultivos micotróficos leguminosos aumenta la colonización y la producción de esporas de HMA (Bethlenfalvay y Linderman, 1992; Blanco y Gutiérrez 1998; Boswell *et al.*, 1998; Gavito y Miller 1998; Kabir y Koide, 2000). La comprensión del efecto de estas prácticas agronómicas sobre la riqueza de especies y la composición de la comunidad de HMA podría contribuir en la identificación de estrategias de manejo que optimicen los beneficios de las micorrizas arbusculares en la producción de los cultivos básicos (Pérez-Luna *et al.*, 2012). Por lo tanto, un uso rentable de los HMA en el contexto agroecológico requiere de una combinación adecuada de la planta hospedadora, el socio fúngico y prácticas de gestión agrícola agroecológicas (Smith *et al.*, 2004; Sawers *et al.*, 2008).

En este estudio se investigó experimentalmente el rol de las poblaciones nativas de HMA en una rotación de cultivos (leguminosa-maíz) con AV. Nos preguntamos ¿La rotación de cultivos con janamargo como AV afecta la frecuencia en las raíces de HMA y su abundancia en el suelo, y consecuentemente al crecimiento del maíz? El objetivo fue determinar los efectos de la incorporación de materia orgánica con janamargo como AV bajo dos sistemas de labranza (AV incorporado y AV no incorporado) y fertilización mineral, en el crecimiento del maíz y en los HMA, así como evaluar la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza. La hipótesis fue que el AV aumenta la abundancia de HMA, alcanzando su mayor nivel cuando el AV no se incorpora al suelo, lo que luego reduce el costo de la planta hospedante para sostener la simbiosis micorrízica.

4.2 Materiales y método

4.2.1 Suelo y Diseño experimental

El suelo utilizado para el experimento fue procedente de parcelas agrícolas de Santiago Undameo, localizado en el municipio de Morelia, Michoacán, México (19°41'13" N 101°14'17" O). El clima de la región es templado subhúmedo (Cw₁; García, 2004). El tipo de suelo es Luvisol crómico (WRB) y ha sido usado históricamente para el cultivo de maíz (INEGI, 1979). Es un suelo franco arcillo arenoso (57.5%, 17.2% y 25.3% de arena, limo y arcilla, respectivamente), con baja concentración de materia orgánica (MO; 2.1%), pH moderadamente ácido (5.73) y una baja concentración de fósforo disponible (2.82 µg/g).

El experimento se realizó en un invernadero del Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Campus Morelia, iniciando en octubre del 2016 y terminando en septiembre de 2017. Se utilizaron macetas con cuatro kg de suelo manteniendo un riego al 80% de la capacidad de campo y la temperatura del aire osciló entre 13° y 30° C, se usó una bolsa de plástico para evitar la lixiviación de las macetas.

El diseño experimental fue factorial completo (3×2×2) con tres factores principales: abono verde con tres niveles (sin AV, con AV incorporado y con AV no incorporado al suelo); control de HMA con dos niveles (sin Carbendazim y con Carbendazim); y fertilización mineral con dos niveles (sin NPK y con NPK). Fueron 12 tratamientos con 4 repeticiones, dando un total de 48 unidades experimentales.

4.2.2 Tratamientos con abonos verdes

Previo a la siembra de maíz, se sembraron 50 semillas de janamargo en todas las UE y se dejaron

crecer durante 10 semanas. A los tratamientos correspondientes a los AV incorporados se les cortó, e incorporó al suelo donde crecieron. Al suelo en las macetas se les dejó durante 10 semanas en el invernadero manteniendo la humedad del suelo al 80% CC para favorecer la descomposición e incorporación de su biomasa. Por su parte, a los tratamientos con AV no incorporados, sólo se les cortó la parte aérea y se dejó sobre la superficie del suelo sin perturbar la estructura del suelo, ni al sistema radical e igualmente se dejaron reposar las macetas manteniendo la humedad del suelo al 80% CC durante 10 semanas para la descomposición de su biomasa. A los tratamientos sin AV se les mantuvo el riego al 80% CC y se dejaron libres de hierbas.

4.2.3 Tratamientos para control de HMA con Carbendazim

Para el control de HMA en el suelo, dos días previo a la siembra de maíz se realizó la aplicación del fungicida Carbendazim con el producto comercial Tlálloc 50% P.H. ® (UPL Agro México). Está bien documentado que este producto sirve para suprimir las poblaciones de HMA, sin embargo, no inhibe completamente el establecimiento de los HMA y puede afectar a otros hongos (Schweiger y Jakobsen, 1998; Kahiluoto et al., 2000; O'Connor et al., 2009). Para fines de este experimento, la concentración usada de Carbendazim fue a dos dosis de 10 µg / g, una previo a la siembra del janamargo y otra previo a la siembra del maíz. El Carbendazim es un fungicida sistémico (de benzimidazol), el cual se usa para el control de muchas enfermedades ocasionadas por hongos, sin embargo, también, es bien conocido sus efectos en el crecimiento de HMA en la raíz. El Carbendazim actúa mediante la inhibición del desarrollo de los tubos germinativos de los hongos, la formación de apresorios y el crecimiento del micelio. La intención de su aplicación era para comparar diferentes manejos con presencia y ausencia de HMA en el maíz.

4.2.4 Tratamientos con fertilización mineral

La fertilización mineral en el suelo de las UE en los tratamientos correspondientes con NPK para el maíz, fue suministrado en dosis semanales y en soluciones líquidas. La fertilización para el N fue con 150 mg/kg de NH_4NO_3 suministrado en 10 dosis semanales y para el P fue con 75 mg/kg de KH_2PO_4 suministrado en tres dosis semanales. Estas dosis fueron para que no se afecte la simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno, ni la colonización de los HMA nativos.

4.2.5 Cultivo de maíz

Posterior al tiempo de descomposición e incorporación, en las mismas macetas y en el mismo suelo de los tratamientos con y sin AV, se sembraron 3 semillas de maíz dejando crecer sólo la plántula más vigorosa. El maíz seleccionado fue un genotipo híbrido PUMA, el cual crece bien con bajas concentraciones de P en el suelo. A las plantas se les dejó crecer durante 10 semanas y posteriormente se cosecharon. Durante la cosecha, se tomó una muestra del suelo húmedo de todas las UE y se guardaron en obscuridad a 4° C hasta que se realizó la medición de nutrientes disponibles en el laboratorio.

Debido a que la biomasa del janamargo en las UE se incorporó en el suelo, se realizó un cultivo de janamargo paralelo con el mismo número de macetas y en las mismas condiciones durante seis semanas y después se cosecharon para medir su peso seco, así como la concentración y cantidad de nutrientes incorporados a su biomasa por cada AV. A las muestras cosechadas de janamargo en el cultivo paralelo y las de maíz en las UE se les midió por separado el peso en fresco de la parte aérea y radical e inmediatamente se secaron en un horno a 70 °C durante dos días y se pesaron en seco ambas partes de la planta.

4.2.6 HMA en el suelo y en la raíz de maíz

Para la observación y cuantificación de HMA, se tomaron las muestras de raíz al momento de cosechar el maíz y se cortaron en pequeños pedazos 2 g de raíz del maíz de cada UE y se mezclaron en un contenedor con 2 L de agua para tomar una muestra representativa de 2 g. El resto de la raíz se puso a secar en un horno durante 48 horas a 70°C para determinar el peso seco. Las muestras para tinción se metieron en baño maría con KOH, se blanquearon con H₂O₂, se tiñeron con azul tripano y se conservaron en glicerina de acuerdo a Kormanik and McGraw (1982). Se midió el porcentaje de la colonización micorrízica contando las estructuras observadas siguiendo el método de McGonigle et al. (1990). Las variables medidas en los HMA fueron: porcentaje de colonización total, frecuencia de hifas, arbusculos, vesículas, otros hongos y sin colonización.

Para medir la cantidad de micelio externo en el suelo de las UE, se tomó una muestra del suelo durante la cosecha del maíz para congelarlo y liofilizarlo. Se tomó una muestra de 1 g de suelo liofilizado para hacer las extracciones de los ácidos grasos totales mediante el protocolo de Sasser (1990), el cual consiste en un proceso de cuatro fases: saponificación (base metabólica compuesta de NaOH con metanol y H₂O), metilación (reactivo de metilación con HCL 6N con metanol), extracción 3 (1:1 v/v hexano:éter-metil-tebutílico) y lavado básico (Solución básica de NaOH diluido en agua). Posteriormente, se realizó la lectura de las muestras en un cromatógrafo de gases para poder determinar el contenido del ácido graso con el marcador 16:1 ω 5, correspondiente a los HMA.

Se realizaron análisis de respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza modificando el método usado por Johnson (1997) usando Carbendazim para inhibir a los HMA y sin inocular para medir la respuesta de las micorrizas nativas (MGR).

4.2.7 Análisis estadísticos

Para el análisis de datos se usaron análisis de varianza (ANDEVA) factorial de tres vías, usando la prueba de Levene para verificar la homocedasticidad en todos los tratamientos. Posterior al ANDEVA, para observar diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó una prueba de múltiples rangos utilizando el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel del 95% de confianza. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico StatGraphics Centurion XV Versión 15.2.06.

4.3 Resultados

Los resultados que se describen en esta sección corresponden a los más importantes o que presentaron diferencias significativas entre tratamientos, así como las interacciones entre factores y algunos efectos de factores individuales que sobresalieron (Tabla 1).

Tabla 1. Valores p de las variables en la ANOVA de tres vías. Valor-p* ($\alpha = 0.05$).

Factor	Ps total maíz	Ps aéreo maíz	Ps raíz maíz	Ps aéreo janamargo	% HMA	16:1w5	MGR
A: Abono Verde	***	***	***	0.642	0.844	*	*
B: Carbendazim	*	***	0.195	*	***	*	na
C: NPK	***	***	**	na	0.467	0.365	0.251
AB	0.352	0.462	0.501	0.259	0.412	0.489	na
AC	*	*	*	na	0.305	0.145	0.664
BC	0.617	0.213	0.717	na	0.496	0.654	na
ABC	0.131	0.088	0.472	na	0.571	0.498	na

*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$; ***, $p < 0.001$; na, no analizado

La biomasa promedio de la parte aérea del janamargo que se incorporó en los tratamientos con AV incorporado y AV no incorporado fue de 9.28 g y 8.94 g, respectivamente (Fig. 1a). Hubo una mayor biomasa incorporada ($F_{(1, 1)} = 4.75, P = 0.0380$) en los tratamientos con Carbendazim (9.91 g) que en los que no tenían Carbendazim (8.31 g) (Fig. 1b).

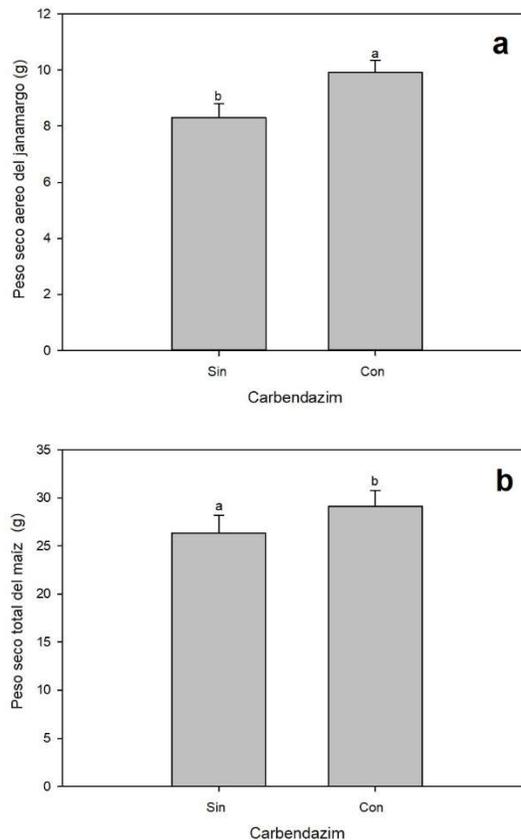


Figura 1. Promedio del peso seco aéreo del janamargo (a) y del peso seco total del maíz (b). Factores: Carbendazim (sin y con Carbendazim). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

4.3.1 Producción de biomasa en el maíz (peso seco)

La aplicación de Carbendazim y NPK en el suelo incrementó el peso seco aéreo del maíz. El peso seco aéreo del maíz en los tratamientos con Carbendazim, fue mayor (17.73 g) que los tratamientos sin Carbendazim (15.86 g) (Fig. 1a). Por su parte, el maíz de los tratamientos con NPK tuvieron

un mayor peso seco (19.02 g) que los tratamientos sin NPK (14.58 g). Hubo interacción entre los factores de “AV y NPK” (Tabla 1). El peso seco aéreo del maíz fue mayor en los tratamientos con AV (19.00 g con AV incorporado y 20.54 g con AV sin incorporar), respecto a los tratamientos testigo (T), que tuvieron un peso seco aéreo promedio de 10.85 g. Sin embargo, cuándo se usó AV sin incorporar al suelo y sin NPK el crecimiento del maíz fue menor. El tratamiento que tuvo mayor biomasa seca aérea de maíz fue el de AV sin incorporar, con Carbendazim y NPK (25.72 g; C.V. = 5%), seguido de AV sin incorporar, sin Carbendazim y con NPK (21.77 g; C.V = 9%). Por su parte, el maíz con el peso aéreo más bajo fueron los tratamientos sin AV, sin Carbendazim y sin NPK (9.22 g; C.V. = 15%).

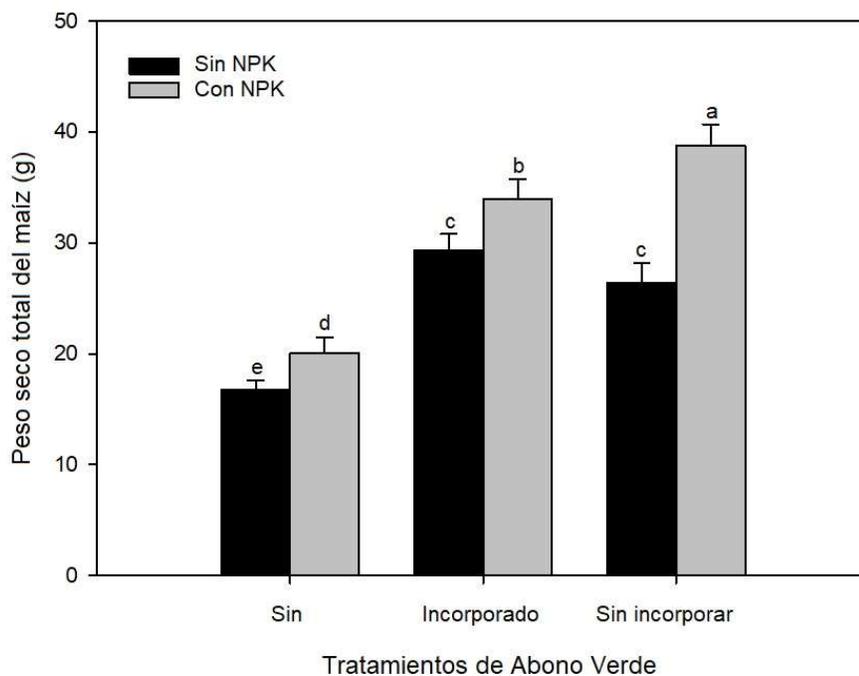


Figura 2. Interacciones entre factores (AV×NPK) con los promedios del peso seco total del maíz. Factores: Abono Verde (sin AV, AV sin incorporar, AV incorporado); y fertilización con NPK (sin y con NPK). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

El peso seco radical del maíz no mostró diferencias significativas entre tratamientos con y sin Carbendazim (Tabla 1). El peso seco radical del maíz fue mayor en los tratamientos con AV incorporado y sin incorporar en el suelo (12.63 g y 12.85 g, respectivamente), respecto a los tratamientos testigo (T), que tuvieron un peso seco radical promedio de 7.34 g. El tratamiento que tuvo mayor biomasa seca radical de maíz fue el de AV sin incorporar, con Carbendazim y NPK, seguido de AV sin incorporar, sin Carbendazim y con NPK. Por su parte, el maíz con el más bajo peso radical fueron los tratamientos sin AV, sin Carbendazim y sin NPK.

El peso seco total del maíz mostró el mismo patrón que el peso seco aéreo. El peso seco total del maíz fue mayor en los tratamientos con AV incorporado y sin incorporar en el suelo (31.62 g y 33.40 g, respectivamente), respecto a los tratamientos testigo (T), que tuvieron un peso seco total promedio de 18.23 g (Figura 2). El tratamiento que tuvo mayor biomasa seca total de maíz fue el de AV sin incorporar, con Carbendazim y NPK (41.57 g; C.V. = 8%), seguido de AV sin incorporar, sin Carbendazim y con NPK (36.04 g; C.V = 17%). Por su parte, el maíz con el más bajo peso total fueron los tratamientos sin AV, sin Carbendazim y sin NPK (14.93 g; C.V. = 11%).

4.3.2 Colonización y micelio externo de HMA

La colonización de HMA a las raíces del maíz fue significativamente diferente entre los tratamientos con y sin Carbendazim. Los tratamientos que tuvieron Carbendazim disminuyeron la colonización y presentaron un 35.8%, y los tratamientos sin inhibición de los HMA con el Carbendazim presentaron mayor colonización de HMA en las raíces (62.8%) (Fig. 3). El uso de AV y la fertilización mineral no tuvieron efectos sobre la colonización de HMA en el maíz.

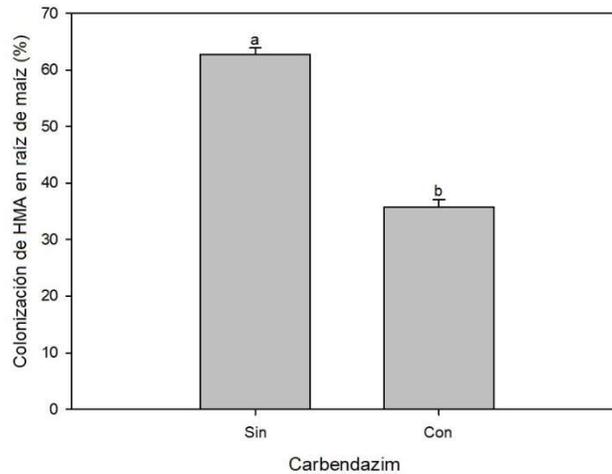


Figura 3. Promedio del porcentaje de colonización de HMA en las raíces de maíz. Factores: Carbendazim (sin y con Carbendazim). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Por su parte, el contenido de biomarcador de ácidos grasos 16:1w5 al inicio del experimento era muy bajo (10.9 moles/g) y con el uso del Carbendazim no aumentó para el momento antes de sembrar el maíz (12.8 moles/g) (Fig. 4a). No obstante, abundancia en el suelo de HMA después del crecimiento del janamargo y del maíz en los tratamientos donde no se aplicó Carbendazim, aumentó significativamente (39.7 moles/g) (Fig. 4a). Por su parte, el uso de AV sí tuvo efectos en la abundancia de HMA en el suelo al final del experimento. En ese sentido el uso de AV sin incorporar en el suelo aumentó significativamente la abundancia de micelio de HMA en el suelo (39.9 moles/g), mientras que en los tratamientos donde sí se incorporó el AV en el suelo, no aumentó la abundancia de HMA en el suelo después del crecimiento del janamargo y de maíz (15.3 nmoles/g) (Fig. 4b).

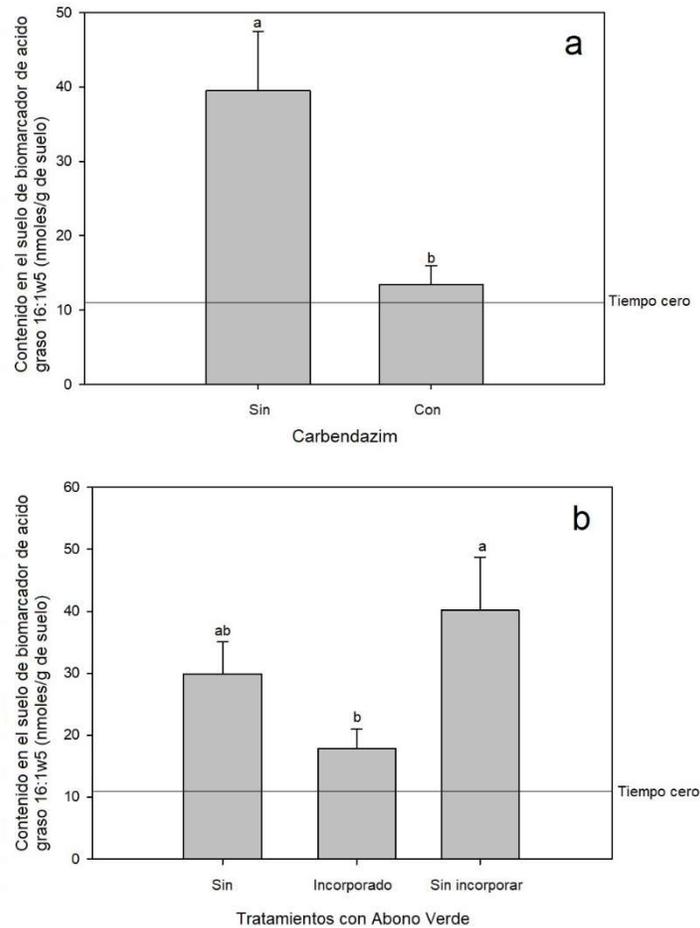


Figura 4. Contenido en el suelo del biomarcador de ácido graso 16:1w5 antes de sembrar el maíz (a) sin y con Carbendazim y después de cosechar el maíz (b) con Abono Verde (sin AV, AV sin incorporar, AV incorporado). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

4.3.3 Respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim

El análisis de la respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim mostró que el maíz sin AV tiene una respuesta de crecimiento negativa a la micorriza, sin embargo, el uso de AV disminuye esta respuesta de crecimiento. Además, la incorporación del AV en el suelo mitigó la respuesta de crecimiento negativa a la micorriza respecto al maíz con AV sin incorporar en el suelo.

El uso de NPK no tuvo efectos significativos en la respuesta de crecimiento del maíz causado por la micorriza sin Carbendazim (Fig.5).

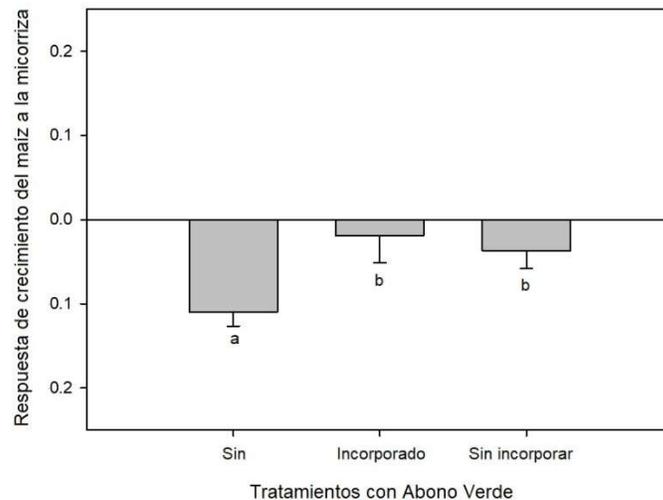


Figura 5. Respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim con el factor Abono Verde (sin AV, AV incorporado, AV sin incorporar). Se muestran las barras de error. Letras diferentes sobre las barras significan diferencias significativas entre tratamientos basados en la prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

4.4 Discusión de resultados

Los efectos del janamargo como precultivo usado como abono verde son evidentes ya que el maíz en los tratamientos sin janamargo (T) produjo sólo cerca del 50% de la biomasa vegetal producida por el maíz en los tratamientos con AV, incluso en los que no se aplicó fertilización mineral con NPK, lo que nos sugiere que el maíz tuvo una mayor respuesta a la incorporación de janamargo. Sin embargo, el tipo de aplicación del AV (incorporado y no incorporado) no tuvo diferencias en la producción de biomasa aérea del maíz cuando se aplicó NPK. Esto nos indica que los nutrientes incorporados en el suelo por el janamargo sí fluyeron desde la materia vegetal hacia

el maíz, a través de la descomposición, mineralización y liberación de nutrientes por los microorganismos. Sin embargo, cuando no se aplicó NPK el maíz creció más en los tratamientos dónde no se incorporo el AV, posiblemente porque al incorporar la materia orgánica sin NPK suceda una inmovilización de nutrientes en la microbiota durante el proceso de descomposición, lo que provoca una liberación de nutrientes más lenta respecto a el uso de AV sin disturbio del suelo. Además, es posible que tratamientos en los que se disminuyó la frecuencia de los HMA con Carbendazim, la mineralización y despolimerización de la materia orgánica por las bacterias y algunos hongos haya sido suficiente para liberar los nutrientes necesarios para el crecimiento del maíz, y que la aplicación de Carbendazim como fungicida pudo ser incluso positiva para el crecimiento del maíz, ya que hubo una menor inversión de azúcares de la planta para establecer completamente la asociación con los HMA.

Por su parte, el maíz con NPK respondió en la misma proporción en casi todos los tratamientos, a excepción del maíz de los tratamientos T (sin AV), dónde el maíz no respondió positivamente a la fertilización mineral. Es posible que se los nutrientes se hayan volatilizado por el calor o se hayan inmovilizado los iones del NH_4NO_3 en la arcilla del suelo, el cual es bastante arcilloso. Además, el maíz del tratamiento T con HMA, tuvo que hacer una mayor inversión de azúcares para la asociación con los HMA y eso disminuyó su potencial de crecimiento.

La supresión completa de los HMA en el suelo con fungicidas es sumamente complicada incluso usando grandes cantidades de fungicida (Schweiger et al., 1998). Sin embargo, en este estudio con rotación de cultivos micotróficos si se logró reducir a la mitad de la colonización en los tratamientos con fungicida. Ésta reducción nos permitió observar algunos patrones en el crecimiento del maíz relacionado con la abundancia de la micorriza. Es de resaltar que a diferencia de otros estudios (Gavito y Miller 1998; McDaniel et al., 2014; Finn et al., 2017), en esta rotación

con cultivos micotróficos no se incrementó la colonización de HMA en el cultivo principal, pero sí aumentó la abundancia en el suelo de HMA al final del experimento cuando el AV no se incorporó en el suelo, lo cuál podría incidir en la colonización del siguiente cultivo y reducir el costo de la planta hospedante para sostener la simbiosis micorrízica, además de disminuir la inversión del micelio exploratorio para establecer la micorriza y asociarse con las plantas (Smith y Read, 2008; Alguacil et al., 2014; Oehl y Koch, 2018).

McGonigle y Miller (1999) reportaron que hay resultados inconsistentes de los efectos del disturbio del suelo en los HMA cuando hay mucha abundancia de los mismos en el suelo que sirva de inóculo para el siguiente cultivo. Sin embargo, en este estudio, la labranza parece ser un factor más determinante en el establecimiento de la micorriza en las raíces que la rotación de cultivos o la fertilización mineral (Ortiz-Salgado et al., 2021) ya que no hay suficiente abundancia de HMA en el suelo que pueda contrarrestar los efectos del disturbio en el suelo. Además, los resultados con marcador de ácidos grasos, nos muestran que el Carbendazim impidió el aumento de la abundancia en el suelo de HMA. No obstante, la rotación de cultivos sin disturbio del suelo (AV no incorporado), incrementó la abundancia de HMA en el suelo respecto a los tratamientos con AV incorporado y el testigo. Esta situación nos demuestra que, de todas las prácticas agrícolas estudiadas en este experimento, la labranza simulada o el disturbio del suelo es el factor que más afectó al establecimiento de la micorriza y al crecimiento de la planta, cómo lo han reportado otros estudios (Larsen et al., 2015; Finn et al., 2017; Ryan y Graham, 2018; de la Cruz-Ortiz et al., 2020; Ortiz-Salgado et al., 2021). En otro estudio, de la Cruz-Ortiz et al. (2020) mostraron que la colonización de HMA, la disminución en la riqueza de especies y los cambios en la composición de especies basadas en esporas de HMA se asociaron con la intensificación de la labranza. Se ha documentado que la densidad de esporas en el suelo de HMA y la colonización en las raíces son

susceptibles a cambios en las propiedades del suelo y alteraciones del suelo (intensidad de las prácticas de labranza) (Balota et al., 2016; Bowles et al., 2017; Lu et al. ., 2018). En ese sentido, el manejo de la labranza y la reducción del disturbio en el suelo puede ser una estrategia de manejo útil para mantener los atributos AMF y las propiedades del suelo (de la Cruz-Ortiz et al., 2020).

En términos generales, aunque no se logró eliminar completamente a los HMA en el suelo, se observó que la mayor colonización por los HMA en los tratamientos sin Carbendazim y se asoció con una respuesta de crecimiento negativa para la planta en los tratamientos sin Carbendazim que se podría modular con diferentes prácticas agrícolas, especialmente la fertilización mineral con NPK. Por su parte, la rotación con janamargo y su uso como AV en el suelo tuvo efectos positivos en el peso seco de la planta, efectos neutrales en la colonización de HMA y cuándo no hubo labranza para la incorporación del AV, efectos positivos en la abundancia en el suelo de HMA. En otros estudios se ha documentado que la fertilización mineral puede afectar a la colonización de HMA, sin embargo, en este estudio si bien, la fertilización mineral no disminuyó la colonización micorrízica si logró mitigar completamente la respuesta de crecimiento negativa a la micorriza en los tratamientos sin Carbendazim. Dicho de otra manera, la fertilización mineral con NPK fomentó una respuesta positiva de la planta a la micorriza.

Estas evidencias, al igual que en otros estudios (Ryan y Graham, 2018; Ortiz-Salgado et al., 2021), nos demuestran que la colonización de HMA no siempre tiene efectos positivos en la planta y que es necesario replantear estudios de campo para poder determinar la importancia de las interacciones entre HMA y la planta y evaluar que prácticas de manejo pueden promover la sinergia positiva en esta interacción. El establecimiento de la asociación micorrízica siempre va a representar una inversión de C para la planta hospedera, por lo que es necesario llevar a cabo manejo de prácticas agrícolas como la labranza o el disturbio del suelo que incrementen el

desempeño de los HMA y los beneficios que pueden proveer, con el propósito de mitigar o eliminar la respuesta de crecimiento negativa a las micorrizas arbusculares sin Carbendazim.

4.5 Conclusiones

En este estudio la rotación de janamargo como AV y la fertilización mineral promovieron la producción de biomasa en el maíz. En ausencia de NPK, las formas de aplicación de los AV (incorporados y no incorporados) tuvieron efecto en el crecimiento del maíz, siendo mayor cuando el AV no se incorporó en el suelo.

En este agroecosistema, el Carbendazim tuvo efectos positivos en el crecimiento del maíz, probablemente por la menor frecuencia de HMA, que pueden representar una carga energética para la planta, no obstante, la incorporación de materia orgánica con abonos verdes hizo sinergia con el NPK y se mitigó la respuesta de crecimiento negativa del maíz relacionada a las poblaciones nativas de micorrizas arbusculares, probablemente al reducir la inversión de carbono por la planta hospedera (maíz) lo que incrementó el crecimiento del maíz especialmente cuando el abono verde no se incorporó en el suelo.

Agradecimientos

Agradecemos al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo al estudiante David A. Ortiz-Salgado (beca número 447991). También queremos agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por los fondos del proyecto de ciencia básica 179319. Finalmente queremos extender los agradecimientos a Ana Lidia Sandoval por el

apoyo técnico en el Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad (LANIES).

4.6 Referencias

- Alguacil, M., Torrecillas, E., García-Orenes, F. y Roldán, A. 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol. Biochem.* **76**, 34–44.
- Balota E., Machineski O., Honda C., Yada I., Barbosa G., Nakatani A. y Coyne M. 2016. Response of arbuscular mycorrhizal fungi in different soil tillage systems to long-term swine slurry application. *L. Degrad. Dev.* **27**:1141–1150.
- Barrer S. 2009. El uso de hongos micorrízicos arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, **7**:123–132.
- Bethlenfalvay G. y Linderman R. 1992. *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA. Special Publication, Madison, Wisconsin. 124 pp.
- Blanco F. y Gutiérrez R. 1998. Efecto de la *Mucuna* sp. en la composición de la comunidad de hongos MA del suelo y en la respuesta del maíz a la inoculación con hongos MA. *Agronomía Costarricense*, **22**:153–161.
- Boddington C. y Dodd J. 2000. The effect of agricultural practices on the development of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil*, **218**:137–144.
- Boswell E., Koide R., Shumway D. y Addy H. 1998. Winter wheat cover cropping, VA mycorrhizal fungi and maize growth and yield. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **67**:55–65.
- Bowles T., Jackson L., Loeher M. y Cavagnaro T. 2017. Ecological intensification and arbuscular mycorrhizas: a meta-analysis of tillage and cover crop effects. *J. Appl. Ecol.* **54**:1785–1793.

- Cherr, C., Scholberg, J. y McSorley, R. 2006. Green manure approaches to crop production: A synthesis. *Agronomy J.* **98**:302–319.
- de la Cruz-Ortiz A., Álvarez-Lopez-tello J., Robles C. y Hernández-Cuevas L. 2020. Tillage intensity reduces the arbuscular mycorrhizal fungi attributes associated with *Solanum lycopersicum*, in the Tehuantepec Isthmus (Oaxaca), Mexico. *Applied Soil Ecology* **149**:103519.
- Douds D., Pfeffer P. y Shachar-Hill Y. 2000 Carbon partitioning, cost and metabolism of arbuscular mycorrhizae in arbuscular mycorrhizas: physiology and function. En Kapulnick D. y Douds Jr. (Eds.). *Arbuscular Mycorrhizas: Molecular Biology and Physiology*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- Finn D., Kopittke, P. M., Dennis, P. G., y Dalal, R. C. 2017. Microbial energy and matter transformation in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **111**:176–192.
- García, E. 2004. Modificaciones al Sistema de Clasificación de Köpen. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México, 90 pp.
- Gavito M. y Miller, M. 1998. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and soil*, **198**(2):185–192.
- Govindarajulu M., Pfeffer P., Jin H., Abubaker J., Douds D., Allen J., Bücking H., Lammers P. y Shachar-Hill Y. 2005. Nitrogen transfer in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Nature*, **435**(7043):819–823.
- Hodge A., Helgason T. y Fitter A. 2010. Nutritional ecology of arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology*, **3**:267–273.
- INEGI. 1979. Carta de edafología, Cuitzeo E14A13, scale 1:50 000; Carta de edafología, Morelia E14A23, scale 1:50 000.
- Honrubia, M. 2009. Las micorrizas: una relación planta-hongo que dura más de 400 millones de años. *Anales del Jardín Botánico de Madrid*, **66**:133–144.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I. y Frossard, E. 2002. Diversity and structure

- of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* **12**:225–234.
- Johnson NC, Graham JH, Smith FA. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *New Phytologist*, **135**:575–585.
- Kabir Z. y Koide R. 2000. The effect of dandelion or a cover crop on mycorrhiza inoculum potential, soil aggregation and yield of maize. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **78**:167–174.
- Kahiluoto, H., Ketoja, E., y Vestberg, M. 2000. Creation of a non-mycorrhizal control for a bioassay of AM effectiveness. 1. Comparison of methods. *Mycorrhiza*, **9**:241-258.
- Kormanik, P., McGraw, A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck N. (Ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*, American Phytopathological Society, St Paul (1982), pp. 37–45.
- Kurle J. y Pflieger F. 1994. The effects of cultural practices and pesticides on VAM fungi. En: Pflieger F y Linderman R. (eds.) *Mycorrhizae and plant health*. pp 101–131. APS Press.
- Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M. y González-Esquivel C. 2015. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **15**(2):449-463.
- Lu X., Lu X. y Liao Y. 2018. Effect of tillage treatment on the diversity of soil arbuscular mycorrhizal fungal and soil aggregate-associated carbon content. *Front. Microbiol.* **9**:1–10.
- McDaniel M. Tiemann L. y Grandy A. 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications*, **24**:560-570.
- McGonigle P. y Miller M. 1999. The inconsistent effect of soil disturbance on colonization of roots by arbuscular mycorrhizal fungi: a test of the inoculum density hypothesis. *Applied Soil Ecology* **14**:147–155.
- McGonigle, P., Millers, M., Evans, D., Fairchild, G. y Swam, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi.

New Phytol. **115**:495–501.

- Miller M., McGonigle T. y Addy H. 1995. Functional ecology of vesicular-arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology*, **15**:241–255.
- O'Connor, P., Manjarrez, M., y Smith, S. E. 2009. The fate and efficacy of benomyl applied to field soils to suppress activity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, **55**:901–904.
- Oehl F. y Koch B., 2018. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in no-till and conventionally tilled vineyards. *J. Appl. Bot. Food Qual.* **91**:56–60.
- Ortiz-Salgado D., García-Oliva F., Alarcón A. y Larsen J. 2021. Soil physical disturbance reduces maize growth, nutrition, and mycorrhiza formation in a green manure rotation with vetch. *Rhizosphere*, **19**:100423. <https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2021.100423>
- Pérez-Luna Y., Álvarez-Solís D., Mendoza-Vega J., Pat-Fernández J., Gómez-Álvarez R. y Cuevas L. 2012. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in maize with cover crops and biofertilizers in Chiapas, Mexico. *Gayana Botanica*, **69**:46–56.
- Robacer, M., Canali, S., Lakkenborg-Kristensen, H., Bavec, F., Grobelnik-Mlakar, S., Jakop, M., Baveca, M. 2016. Cover crops in organic field vegetable production. *Sci. Hort.* **208**:104–110.
- Ryan M. y Graham J. 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist*, **220**:1092–1107.
- Sasser M. 1990. Identification of Bacteria by Gas Chromatography of Cellular Fatty Acids. Technical Note No. 101 *Sherlock Microbial Identification System (MIS)*. MIDI-Inc. E.U.A.
- Sawers R., Gutjahr C. y Paszkowski U. 2008. Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in plant science*, **13**:93–97.
- Schalamuk S. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Micología*, **98**:16–22.

- Schipanski M., Barbercheck M., Douglas M., Finney D., Haider K., Kaye J., Kemanian A., Mortensen D., Ryan M., Tooker J. y White C. 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, **125**:12–22.
- Schweiger, R. and Jakobsen, I. 1998. Dose response relationships between four pesticides and phosphorus uptake by hyphae of arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.* **30**:1415-1422.
- Smith S. y Read D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3rd Ed. Oxford, UK. Academic Press.
- Smith S., Smith F. y Jakobsen I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, **162**:511–524.
- Solaiman M. y Saito M. 1997. Use of sugars by intraradical hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi revealed by radiorespirometry. *New Phytologist*, **136**:533–538.
- Stürmer S., y Siqueira J. 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*, **21**:255–267.
- Vannette R. y Hunter M. 2009. Mycorrhizal fungi as mediators of defence against insect pests in agricultural systems. *Agricultural and Forest Entomology*, **11**:351–358.
- Wahbi, S., Prin, Y., Thioulouse, J., Sanguin, H., Baudoin, E., Maghraoui, T., Duponnois, R. 2016. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities. *Front. Plant Sci.* **7**:1364.
- Wilson G., Rice C., Rillig M., Springer A. y Hartnett D.C. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters*, **12**:452–461.

CAPÍTULO 5

**EVIDENCIAS EN CAMPO DE LOS EFECTOS DE LA FERTILIZACIÓN MINERAL EN
LA ROTACIÓN ABONO VERDE-MAÍZ Y EN LA INTERACCIÓN DEL MAÍZ CON
LAS MICORRIZAS ARBUSCULARES**

Resumen

Las prácticas intensivas de labranza y fertilización en los agroecosistemas pueden modificar la interacción de los HMA con las plantas, reduciendo los beneficios que proporcionan para el cultivo. Para reestablecer las sinergias y aprovechar los beneficios de los HMA al cultivo, es necesario implementar prácticas agrícolas de conservación con funciones complementarias. Una de ellas es la rotación de cultivos usando abonos verdes leguminosos como el janamargo (*Vicia sativa* L.). En un experimento de campo se investigó el papel de las micorrizas nativas en la rotación de cultivos con abonos verdes con diferentes manejos de labranza y fertilización en el crecimiento, la calidad de grano del maíz y la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Se realizó en una parcela agrícola con intenso manejo de fertilización sintética y labranza y estuvo compuesto por tres fases: crecimiento del janamargo (15 semanas); descomposición del janamargo (8 semanas); y crecimiento del maíz hasta mazorca (25 semanas). El diseño experimental fue factorial completo con tres factores: i) Abono verde con janamargo (sin AV, AV sin incorporar y AV incorporado); ii) inhibición de HMA (sin y con Carbendazim); iii) fertilización mineral (sin y con NPK). Se realizaron tres cosechas en diferentes fases (vegetativa, reproductiva y senescencia) para medir el peso y nutrición del maíz y granos, la colonización de HMA, y la concentración de NH_4^+ , NO_3^- en el suelo al final del experimento. El uso de janamargo como AV contribuyó notablemente con N y P orgánico al suelo. Se observó una respuesta de crecimiento negativa del maíz a la micorriza sin Carbendazim correlacionada con una mayor colonización y frecuencia de vesículas y arbuscúlos de HMA. Sin embargo, la fertilización mineral fomentó una respuesta de crecimiento positiva y su manejo en esta rotación de cultivos podría potenciar los beneficios de la micorriza en el cultivo.

Palabras clave: *Rotación de cultivos, cultivos de cobertura, reciclaje de nutrientes, disponibilidad de nutrientes, fertilización mineral.*

5.1 Introducción

Los agrosistemas representan alrededor del 40% de la superficie terrestre del planeta, y a pesar de que no son sistemas naturales proporcionan diversos servicios ecosistémicos (SE) de aprovisionamiento indispensables para el ser humano, como la producción de alimentos (Power, 2010). Sin embargo, prácticas convencionales de labranza afectan negativamente a los microorganismos del suelo y los diversos servicios ecosistémicos que proporcionan (Schalamuk et al., 2006; Schipanski et al., 2014). Además, una de las propiedades del suelo que más se ven afectadas con la labranza es el contenido de materia orgánica, la cual es un factor clave en la fertilidad del suelo, ya que actúa sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo aumentando la diversidad de microorganismos en el suelo (Scoopel, 2001; Mazzoncini et al., 2011; Abdalla et al., 2014).

La rotación de cultivos con el uso de abonos verdes (AV) puede ser una oportunidad del manejo de labranza en donde se puede incorporar nutrientes en la materia orgánica, activar la microbiota edáfica, reciclar nutrientes y evitar su pérdida por lixiviación. Los abonos verdes normalmente son usados como precultivo y son incorporados en el suelo antes del cultivo principal y se dejan un tiempo para promover su descomposición y liberar los nutrientes en el suelo para el cultivo principal, pero también se pueden sólo cortar y dejar sobre el suelo para evitar disturbio en el suelo (Cherr et al., 2006). Los abonos verdes también tienen otras funciones en la que destacan un amplio rango de funciones como aumentar la diversidad y actividad de la microbiota edáfica y modificar sus interacciones con el cultivo (Thorup-Kristensen et al., 2003), así como reducir la cantidad de insumos sintéticos, tales como fertilizantes minerales y pesticidas, que se usan para incrementar la fertilidad del suelo y para el manejo de plagas (Robacer *et al.* 2016).

Dentro de la microbiota que puede modificarse con el uso de AV están los hongos

micorrízicos arbusculares (HMA), los cuales son briótrofos obligados que colonizan las raíces de las plantas, obteniendo azúcares a cambio de nutrientes minerales que pueden ser absorbidos y translocados a través de una extensa red de hifas del micelio extraradical que se extiende desde las raíces colonizadas hacia el suelo (Smith y Read, 2008). En general, las comunidades microbianas se ven beneficiadas con su presencia y se promueve su funcionalidad con la diversificación y rotación de cultivos (McDaniel *et al.*, 2014; Finn *et al.*, 2017; Ryan y Graham, 2018).

Sin embargo, la red de hifas de los HMA es muy sensible a las diferentes prácticas agrícolas como la labranza y, con el cambio de uso de suelo y de la cobertura vegetal, se puede modificar la estructura y riqueza de la comunidad de los HMA (Stürmer y Siqueira, 2011). Además, otras prácticas de perturbación del suelo, fertilización excesiva, monocultivos y uso excesivo de pesticidas, pueden comprometer los beneficios y funciones de estos microorganismos para las comunidades microbianas del suelo y para el cultivo (Larsen *et al.*, 2015; Finn *et al.*, 2017). Está bastante documentado que los cambios en la composición y diversidad genética de la comunidad fúngica micorrízica se presentan principalmente cuando se comparan los sistemas de labranza de baja intensidad con sistemas de labranza de alta intensidad, donde se presenta menor diversidad, lo que afecta el funcionamiento y eficiencia de la simbiosis (Miller *et al.*, 1995; Boddington y Dodd, 2000; Jansa *et al.*, 2002; Alguacil *et al.*, 2014).

Además, estos cambios en las comunidades de los HMA afectan a la manera en la que interaccionan con las plantas, lo que puede provocar que esta interacción transite entre el mutualismo y el parasitismo (Johnson *et al.*, 1997; Verbruggen y Kiers, 2010). En agroecosistemas con monocultivos, labranza y fertilización intensiva se elimina mucha de la microbiota edáfica asociada a las micorrizas arbusculares e incluso se promueve el desarrollo de especies de HMA que toman carbono de la planta sin transferir nutrientes, y en muchos casos esta simbiosis no

siempre va a representar un beneficio para la planta hospedera (Ryan y Graham, 2002; Verbruggen et al., 2012; Johnson et al., 2015).

Por tanto, es importante buscar y establecer prácticas agrícolas para que exista una compensación entre los diferentes SE afectados en estos agrosistemas y se promuevan los beneficios que proporcionan las micorrizas arbusculares (Snapp *et al.*, 2005; Schipanski *et al.*, 2014). Un uso rentable de los HMA en el contexto agroecológico requiere de una combinación adecuada de la planta hospedadora, el socio fúngico y prácticas de gestión agrícola agroecológicas (Smith *et al.*, 2004; Sawers *et al.* 2008). En ese sentido, la rotación de cultivos con abonos verdes leguminosos podría incrementar la subsecuente colonización de HMA en el maíz. Además, las leguminosas destacan sobre otras plantas (Kuo et al., 2001), ya que pueden incorporar al suelo N atmosférico fijado en la rizobia que se forma con la asociación simbiótica de bacterias con estas plantas (Wahbi et al., 2016).

En este estudio, se investigó en una prueba de campo la importancia de las poblaciones nativas de HMA en una rotación de cultivos (leguminosa-maíz) como abonos verdes y el objetivo fue evaluar los efectos del uso de janamargo como AV bajo dos manejos de labranza (con labranza para incorporar AV y sin labranza para no incorporar el AV) y fertilización mineral, en la productividad y nutrición del maíz, en el desempeño de las micorrizas arbusculares y su interacción con el cultivo, así como en la disponibilidad de nutrientes en el suelo. La hipótesis del trabajo fue que la incorporación de materia orgánica con AV y la reducción de labranza favorecen la colonización de HMA y la sinergia mutualista de la simbiosis entre los HMA y el maíz, mientras que la fertilización mineral, el barbecho y la perturbación del suelo reducen el desempeño de la micorriza.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Parcela de estudio

La parcela de estudio se ubicó en la localidad de Ampliación Jamaica, en el municipio de Tarímbaro, Michoacán, México (19°51'02" N, 101°08'19" O). Históricamente la parcela ha tenido intenso manejo de labranza y fertilización sintética para el cultivo de maíz. El clima de la región es templado subhúmedo con lluvias durante el verano (Cw1; García, 2004). El tipo de suelo es Feozem (WRB) y ha sido usado históricamente para el cultivo de maíz (INEGI, 1979). Es un suelo franco arcillo arenoso (60.92%, 15.84% y 23.24% de arena, limo y arcilla, respectivamente), con 1.14% de materia orgánica, pH alcalino (8.33) y una alta concentración de fósforo y nitrógeno disponibles (20.11 y 67.04 µg/g, respectivamente).

5.2.2 Diseño experimental

El diseño experimental fue factorial completo (3×2×2) con tres factores principales: abono verde con tres niveles (sin AV, con AV incorporado y con AV no incorporados al suelo); control de HMA con dos niveles (sin Carbendazim y con Carbendazim); y fertilización mineral con dos niveles (sin NPK y con NPK). Fueron 12 tratamientos con 4 repeticiones, dando 48 unidades experimentales. Cada UE medía 4 surcos de arado de 10 m de largo. Para la distribución de los tratamientos en el campo, la parcela se dividió en cuatro bloques y cada uno se dividió en tres subparcelas usando las líneas de arado, en una se realizó el manejo labranza usando AV incorporado, en otra se utilizó labranza reducida usando AV sin incorporar en el suelo y la otra fue el testigo sin AV. Se dejó dos surcos como pasillo sin plantas entre bloques. Así mismo, cada bloque se dividió en dos subparcelas, en una se aplicó NPK y en la otra no se aplicó. Finalmente, para el control de HMA

cada bloque se dividió en dos subparcelas, en una se aplicó Carbendazim y en la otra no se aplicó fungicida.

5.2.3 Tratamientos de labranza con abonos verdes

La siembra del janamargo (*Vicia sativa* L.) se realizó el 19 de diciembre de 2018, con sembradora a una densidad de 3 cm entre semillas (400,000 semillas/ha). En los tratamientos sin AV, se realizó un deshierbe total en cuanto la plántula emergió y se mantuvo libre de cobertura vegetal hasta la siembra del maíz. En los tratamientos con AV se realizó un deshierbe manual de las plantas arvenses a las 8 semanas en todos los tratamientos y se mantuvo libre de estas plantas. El riego del cultivo de janamargo fue por goteo cada 12 días durante 8 horas y creció durante 15 semanas. Los tratamientos correspondientes a los AV incorporados se les podó con podadora de tractor y se incorporó al suelo donde crecieron (a 20 cm de profundidad) con un rotavator. A los tratamientos con AV no incorporado, sólo se les podó y se dejó la parte aérea sobre la superficie del suelo donde creció, sin perturbar la estructura del suelo ni el sistema radical. Se tomaron muestras de janamargo para su análisis de nutrientes (Nt y Pt) en el tejido vegetal previo a su incorporación en el suelo. Posteriormente, en todos los tratamientos se mantuvo el riego por goteo cada 15 días por 8 horas para favorecer la descomposición y mineralización de la biomasa del janamargo durante 8 semanas.

5.2.4 Tratamientos para control de HMA con Carbendazim

Para el control de la colonización de HMA en el suelo, dos días previo a la siembra de maíz se realizó la aplicación del fungicida Carbendazim con el producto comercial Tlálloc 50% P.H. ® (UPL Agro México). Está bien documentado que este producto sirve para suprimir las poblaciones

de HMA, sin embargo, no inhibe completamente el establecimiento de los HMA y puede afectar a otros hongos (Schweiger et al., 1998; Kahiluoto et al., 2000; O'Connor et al., 2009). Para fines de este experimento, la concentración usada fue bastante alta (75 kg/ha o 16.4 µg/g de suelo), basándose en el trabajo de Schweiger et al. (1998), para poder suprimir a los HMA. A los 15 días se realizó una segunda aplicación para eliminar a los HMA de los tratamientos correspondientes.

5.2.5 Cultivo de maíz

La siembra del maíz fue el 29 de mayo del 2019 (8 semanas después de la incorporación de los AV en el suelo) y se realizó con sembradora a una densidad de 80,000 semillas/ha, usando la variedad híbrida de maíz H-318, producida por Milpal®, la cual es una variedad de maíz blanco híbrido de ciclo intermedio. Para el control de las arvenses se aplicó Dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo correspondientes a 2L de Paraquat / 200L de agua por hectárea, previo a la siembra de maíz y a los 15 días posteriores a la siembra. Así mismo se usó Tembotriona 4.4 para el control del zacate alrededor de los tratamientos. El control de insectos se realizó con Permetrina al 9% al momento de la siembra del maíz. Se mantuvo el riego por goteo durante 8 horas cada 12 días hasta que las lluvias fueron constantes.

5.2.6 Tratamientos con fertilización mineral

La fertilización mineral fue en cuatro aplicaciones a lo largo del ciclo de cultivo del maíz. La primera aplicación fue completa (400 kg/ha) con la sembradora durante la siembra de maíz. Se usó una mezcla con macro y micronutrientes en una proporción de sus unidades correspondiente a 118 N / 95 P / 47 K / 5 Ca / 8 Zn / 4 Fe / 3 B / 1 Cu. Para la mezcla se usó Fosfato Monoamónico

(MAP), Sulfato de Potasio (SOP), Urea, Sulfato de Amonio, Sulfato Ferroso, Sulfato de Zinc, Boro, Sulfato de Manganeso y Sulfato de Cobre. La segunda aplicación fue a mano en la semana 4, durante la etapa V4 (30% de la dosis inicial). La tercera aplicación fue en la semana 8, durante la etapa V10 (50% de la dosis inicial) y la cuarta aplicación fue en la semana 14, durante la etapa Rt (20% de la dosis inicial).

5.2.7 Cosechas y análisis de laboratorio

Se realizaron 3 cosechas a lo largo del ciclo. La primera cosecha fue en la etapa Vt (semana 7), la segunda fue en la etapa R1 (semana 11) y la cosecha final fue en la etapa de senescencia (semana 25). En las dos primeras cosechas se extrajo la parte aérea y la parte radical para determinar el peso seco y el contenido de nutrientes en el tejido vegetal, y en la tercera cosecha se extrajeron las mazorcas y el rastrojo para la determinación de la productividad y calidad de grano. Se tomaron muestras de suelo (250 g) en la última cosecha para la determinación de nutrientes disponibles.

5.2.8 Concentración de N y P en material vegetal

A las muestras del janamargo con la materia orgánica de la parte aérea y radical mezclada se les determinó la concentración de Nt y Pt por medio de una digestión ácida con H₂SO₄, H₂O₂, K₂SO₄ y CuSO₄ a 360°C y posteriormente medido por colorimetría. El N fue determinado usando el método de extracción con digestión ácida Kjeldahl (Bremmer, 1996) y los extractos fueron filtrados para ser medidos (Weatherburn, 1967); mientras que el P se realizó mediante una reducción con ácido ascórbico y se midió como fosfomolibdeno (Murphy y Riley, 1962). La lectura de los extractos se realizó en el Autoanalizador BRAN LUEBBE (Norderstedt, Germany).

5.2.9 Nutrientes en el suelo

A las muestras de suelo húmedo se les midió la concentración de HPO_4^{2-} , NO_3^- y NH_4^+ disponibles en el suelo y se les determinó el pH con un potenciómetro (5 g / 50 ml), así como el porcentaje de humedad. El NO_3^- y NH_4^+ fueron extraídos con una solución 1 N KCl, posteriormente los extractos fueron filtrados con papel Whatman No. 1 y medidos por colorimetría usando el método fenol-hipoclorito (Robertson et al., 1999).

5.2.10 HMA en el suelo y en la raíz de maíz

Para la observación y cuantificación de HMA, se tomaron las muestras de raíz y se cortaron en pequeños pedazos 2 g de raíz del maíz de cada UE y se mezclaron en un contenedor con 2 L de agua para tomar una muestra representativa de 2 g. El resto de la raíz se puso a secar en un horno durante 48 horas a 70°C para determinar el peso seco. Las muestras para tinción se metieron en baño maría con KOH, se blanquearon con H_2O_2 , se tiñeron con azul tripano y se conservaron en glicerina de acuerdo a Kormanik and McGraw (1982). Se midió el porcentaje de la colonización micorrízica contando las estructuras observadas siguiendo el método de McGonigle et al. (1990). Las variables generales medidas fueron: porcentaje de colonización por estructuras de los HMA, ovillos (coils), hifas, micelio externo, arbusculos, vesículas, otros hongos y sin colonización.

El objetivo de la aplicación del Carbendazim en los tratamientos correspondientes fue para inhibir a los HMA, por lo tanto, se hablará de los efectos del Carbendazim relacionados al aplazamiento en la colonización de HMA (que se reflejó en una menor frecuencia de sus estructuras) y sus efectos en el maíz. En ese sentido, se realizaron análisis de respuesta de crecimiento del maíz a la micorriza sin Carbendazim (MGR), y análisis de respuesta en el contenido

de nutrientes en el maíz (MNR y MPR) a la colonización por las micorrizas arbusculares sin Carbendazim modificando el método usado por Johnson (1997) tomando como referencia la aplicación o la ausencia de Carbendazim en los tratamientos. Para medir la respuesta de las micorrizas nativas, no se inoculó HMA. Así mismo, se realizaron las correlaciones de estas tres variables de respuesta a la micorriza (MGR, MNR, MPR) con la frecuencia de las estructuras de HMA en las raíces y las variables medidas en el maíz y el suelo. La respuesta al crecimiento y nutrición a la micorriza sin Carbendazim (MGR, MNR y MPR) se calculó como una relación de respuesta simple como se describe en Johnson (2010): $MGR = \log_e(AM/NM)$, donde AM es el peso seco total o contenido de nutrientes de las plantas con micorrizas sin Carbendazim y NM es el peso seco o contenido medio de nutrientes de un tratamiento con control de micorriza con Carbendazim, bajo las mismas condiciones de nutrientes suministrados. Los valores de MGR, MNR y MPR van de -1 (que representa respuesta crecimiento negativa a la micorriza) a 1 (que representa respuesta de crecimiento positiva a la micorriza). Así mismo, se realizaron las correlaciones de estas tres variables de respuesta a la micorriza sin Carbendazim con la frecuencia de todas las estructuras de HMA en las raíces.

5.2.11 Análisis estadísticos

Para el análisis de datos se usaron análisis de varianza (ANDEVA) factorial de tres vías. Usando la prueba de Levene para verificar la homocedasticidad en todos los tratamientos. Posterior al ANDEVA, para observar diferencias significativas entre tratamientos, se utilizó una prueba de múltiples rangos utilizando el procedimiento de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher, con un nivel del 95% de confianza. Todos los análisis se realizaron en el programa estadístico StatGraphics Centurion XV Versión 15.2.06.

5.3 Resultados

Los resultados que se describen en esta sección corresponden a los más importantes o que presentaron diferencias significativas entre tratamientos, así como las interacciones entre factores y algunos efectos de factores individuales que sobresalieron (Tabla 1). Todas las medias de las variables medidas se pueden consultar en la Tabla 2 del Material Suplementario.

5.3.1 Biomasa vegetal y nutrientes incorporados con el janamargo

La biomasa seca total incorporada de janamargo como AV fue de 9.025 tons/ha, aproximadamente, de los cuales 5.014 tons/ha son de parte aérea (55%) y 4.011 tons/ha de parte radical (45%). La concentración de N en el tejido aéreo y tejido radical mezclados del Janamargo fue de 32.31 mg/g. Por su parte, la concentración de P en el tejido aéreo y tejido radical mezclados del Janamargo fue de 4.28 mg/g. En total se incorporaron en la parcela 291.64 kg/ha de N y 38.66 kg/ha de P.

5.3.2 Biomasa y nutrición vegetal del maíz (Vt y R1)

En la fase vegetativa (Vt) el maíz presentó diferencias significativas entre tratamientos con NPK, siendo mayor el peso seco total en los tratamientos dónde se aplicó fertilización mineral. No hubo interacciones significativas entre los factores, ni efectos de los AV (Tabla 1).

Ya en la fase reproductiva (R1) el maíz también presentó diferencias significativas en el peso seco total entre tratamientos con NPK y sin NPK, siendo mayor el peso seco total cuando se aplicó fertilización mineral. Además, en los tratamientos donde se aplicó Carbendazim y NPK hubo un mayor peso en la mazorca. No hubo interacciones significativas entre los factores ni efectos de los AV en el maíz (Tabla 1).

En la fase R1, donde ya se midió la nutrición vegetal, se observaron diferencias en el contenido de N y P en el tejido vegetal en dos de los factores principales (Carbendazim y NPK). En ese sentido, los tratamientos en los que se aplicó Carbendazim y NPK tuvieron un mayor contenido de N y P en el tejido respecto a la contraparte de estos tratamientos. No hubo interacciones significativas entre los factores ni efectos de los AV en el maíz (Tabla 1).

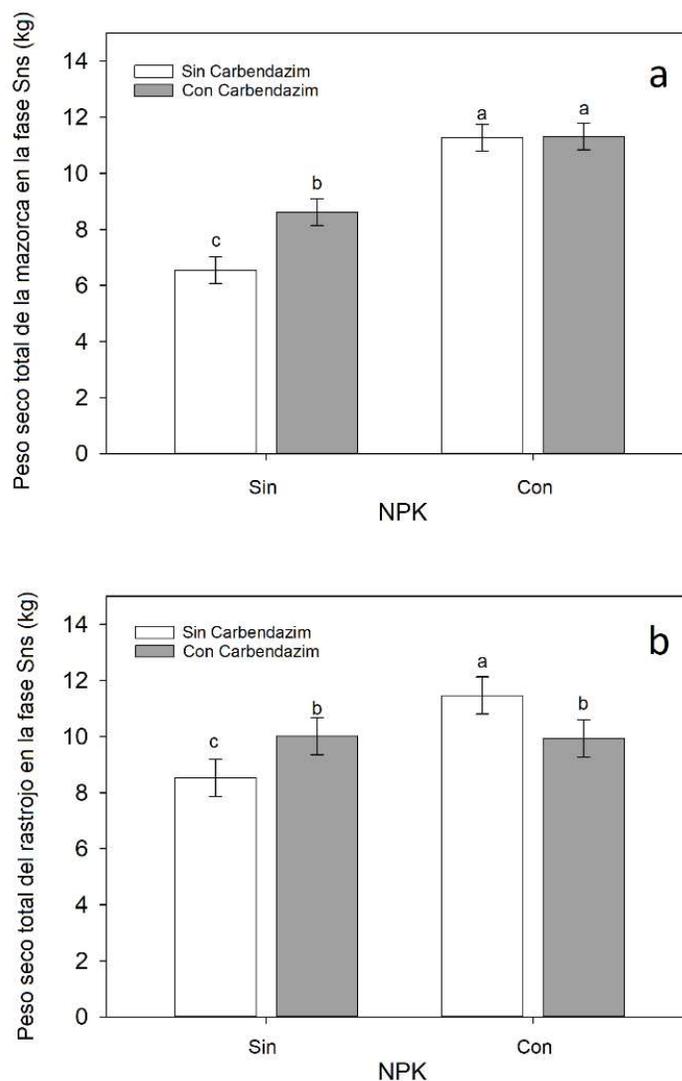


Figura 1. Gráfico de la interacción entre los factores (Carbendazim×NPK) con los promedios de peso seco total de maíz (a) y peso seco de rastrojo (b). Los valores son por cada planta. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

5.3.3 Biomasa y nutrición senescencia (Sns)

En la fase de senescencia sólo la fertilización mineral tuvo efectos incrementando el peso seco total (Tabla 1). Sin embargo, el peso de la mazorca fue significativamente mayor cuando se aplicó fertilización mineral y también cuando se aplicó Carbendazim, respecto a los tratamientos sin estos factores y hubo interacciones entre los factores “Carbendazim×NPK” en el peso de la mazorca (Tabla 1). Se observó que cuando no se aplicó fertilización mineral hubo mayor producción de mazorca en los tratamientos con Carbendazim, mientras que cuando se aplicó NPK no hubo diferencias entre tratamientos con y sin Carbendazim (Figura 1a). Así mismo, hubo interacción entre los factores “Carbendazim×NPK” en el peso seco del rastrojo (Tabla 1), en este caso, cuando se aplicó fertilización mineral hubo mayor producción donde no se aplicó Carbendazim, mientras que sin NPK fue mayor la producción de rastrojo en los tratamientos con Carbendazim (Figura 1b). En esta etapa tampoco se observaron efectos de los AV en el crecimiento del maíz.

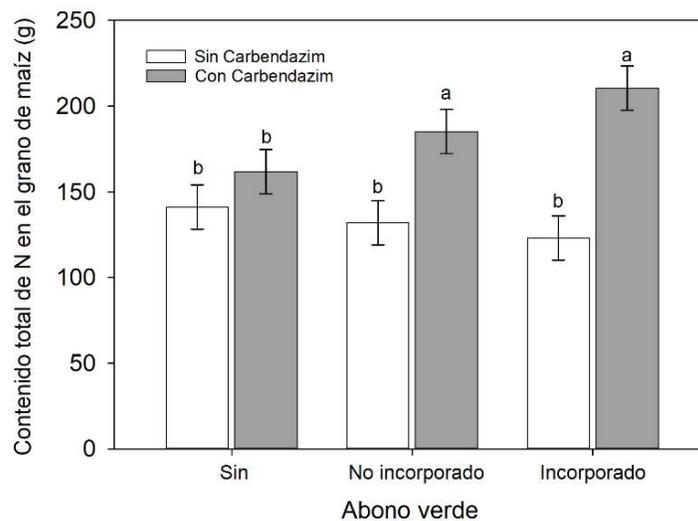


Figura 2. Gráfico de la interacción de los factores (Abono verde×Carbendazim) con los promedios del contenido de nitrógeno total en el grano de maíz. Los valores son por cada planta. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y Carbendazim (sin y con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

El contenido total de N en la mazorca, fue mayor en tratamientos con Carbendazim y fertilización mineral, y hubo interacciones entre los factores “Abono Verde × Carbendazim” (Tabla 1). En ese sentido, cuando el abono verde se incorporó al suelo fue mayor el Nt en los tratamientos con Carbendazim, mientras que en los tratamientos sin AV y con el AV no incorporado, no hubieron diferencias en el Nt de la mazorca entre tratamientos con y sin Carbendazim (Figura 2). En los tratamientos donde sí se aplicó Carbendazim, se presentó un mayor Nt de la mazorca en los tratamientos donde el AV fue incorporado y en los que se aplicó NPK (Figura 3a y b).

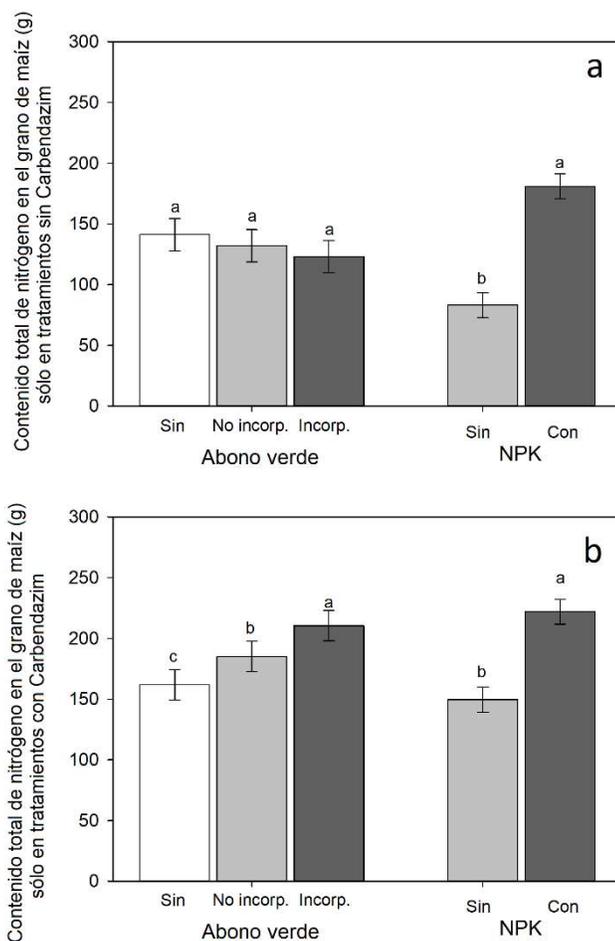


Figura 3. Gráfico con los promedios del contenido de nitrógeno total en grano de maíz sólo sin (a) y con (b) tratamientos con Carbendazim. Los valores son por cada planta. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y Carbendazim (sin y con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

El contenido total de P de la mazorca, presentó diferencias entre tratamientos con K (Tabla 1), siendo mayor el Pt en los tratamientos con Carbendazim y NPK. No hubo interacción entre factores y tampoco se observaron efectos significativos de los AV en el contenido de Pt.

5.3.4 Productividad y calidad de grano

En cuanto a la productividad de grano en el cultivo se encontraron diferencias significativas con los factores Carbendazim y fertilización mineral, así como una interacción entre ellos (Tabla 1). En ese sentido fue mayor la productividad en los tratamientos donde se aplicó Carbendazim y cuando se aplicó fertilización mineral, siendo muy dramática la diferencia respecto a los tratamientos sin NPK. Así mismo, la interacción entre estos factores mostró que cuando no se aplicó fertilización mineral hubo mayor productividad de grano en los tratamientos con Carbendazim, mientras que cuando se aplicó NPK no hubo diferencias en la productividad de grano entre tratamientos con y sin Carbendazim (Figura 4).

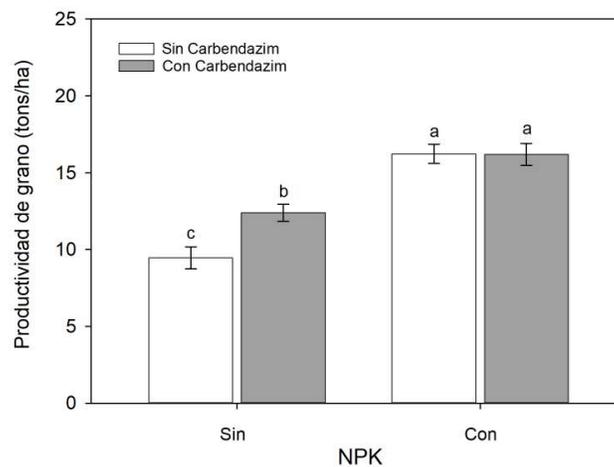


Figura 4. Gráfico de interacción entre factores (Carbendazim×NPK) con los promedios de productividad de grano. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

En cuanto a la calidad de grano, hubo una mayor concentración de N en el grano de maíz en los tratamientos donde se aplicó Carbendazim y fertilización mineral, así mismo, se encontraron interacciones entre los factores Abono Verde con Carbendazim “, así como entre Abono Verde con NPK (Tabla 1). En la primera interacción se observó que hubo una mayor concentración de N en los dos tratamientos con AV respecto al testigo y a los tratamientos con Carbendazim, mientras que no hubo diferencias en la [N] entre tratamientos con y sin Carbendazim cuando no se usó AV (Figura 5a). En la segunda interacción, cuando no se usó el AV, la concentración de N en el grano fue mucho mayor en los tratamientos con fertilización mineral, mientras que en los tratamientos donde se usó el AV (incorporado y no incorporado), las diferencias en la [N] en el grano entre tratamientos con y sin NPK fueron menores (Figura 5b). Por su parte, se encontró una mayor [P] en el grano de maíz en los los tratamientos donde se aplicó Carbendazim y fertilización mineral, así mismo, no se encontraron interacciones entre factores ni efectos de los AV (Tabla 1).

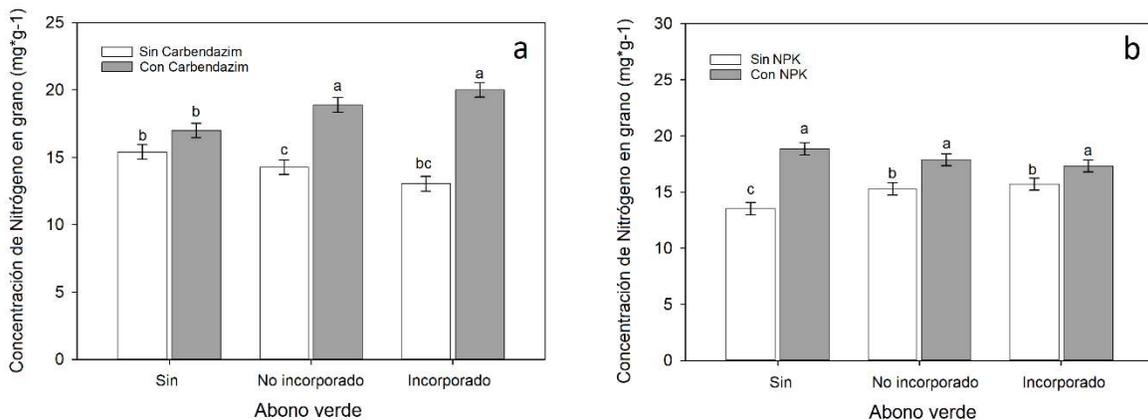


Figura 5. Gráfico de interacción entre los factores Abono verde×Carbendazim (a) y Abono verde×NPK (b), con los promedios de concentración de nitrógeno en grano. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); Carbendazim (sin y con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher (P < 0.05).

5.3.5 Disponibilidad de nutrientes en el suelo (NH_4^+ , NO_3^-)

Amonio. La concentración de amonio en el suelo al final del experimento fue baja (menor a $1 \mu\text{g/g}$), y el Carbendazim fue el único factor que tuvo efectos sobre la disponibilidad de este nutriente (Tabla 1), siendo mayor en los tratamientos con Carbendazim respecto a los que no tenían Carbendazim (Tabla 2).

Nitrato. La disponibilidad del nitrato en el suelo al final del experimento fue afectada por el Carbendazim y la fertilización con NPK y se encontró una interacción significativa entre los AV y el NPK. (Tabla 1). La disponibilidad de NO_3^- fue mayor en los tratamientos con Carbendazim y NPK, respecto a los que no tenían Carbendazim y NPK, respectivamente (Figura 6). Por su parte la interacción nos mostró que cuando los AV se incorporan al suelo no hay diferencia en la disponibilidad de NO_3^- entre tratamientos con y sin NPK, a diferencia de los tratamientos con AV no incorporado y el testigo sin AV que si presentaron diferencias entre tratamientos con y sin NPK.

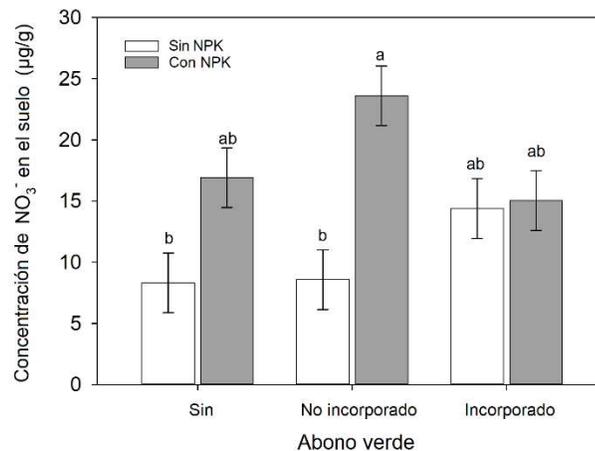


Figura 6. Gráfico de interacción entre los factores Abono verde×NPK, con los promedios de concentración de NO_3^- en el suelo. Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

5.3.6 Relación Nitrato/Amonio

La relación amonio/nitrato en el suelo fue significativamente más alta en los tratamientos con NPK y se encontró una interacción de esta variable entre AV y NPK (Tabla 1). En esta interacción se observa que la nitrificación solo se ve favorecida con el NPK cuando no se incorpora el AV, mientras que cuando se incorpora el AV en el suelo o no hay AV, la nitrificación, expresada en la relación $\text{NH}_4^+/\text{NO}_3^-$, es igual entre tratamientos con y sin NPK (Tabla 2).

5.3.7 Colonización con HMA

Fase Vt. La colonización total por HMA sólo se vio afectada por la aplicación de Carbendazim (Tabla 1), siendo menor en los tratamientos en los que se aplicó. Sin embargo, el efecto del Carbendazim fue más notorio en la producción de vesículas y arbuscúlos, donde también el NPK disminuyó su frecuencia. Además, la producción de arbuscúlos disminuyó significativamente en los tratamientos con NPK (Figura 7).

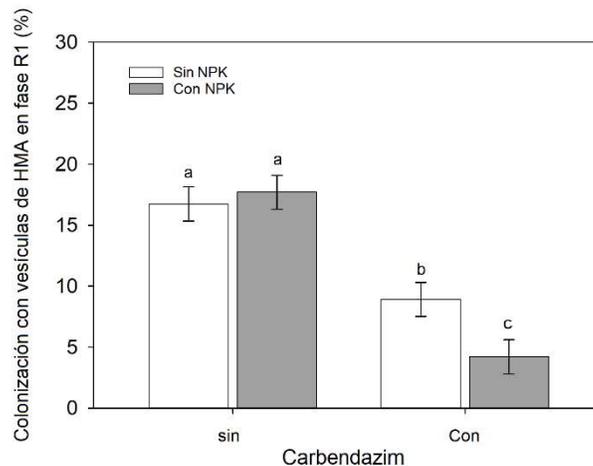


Figura 7. Gráfico de interacción entre factores (Carbendazim×NPK) con los promedios de la colonización de vesículas de HMA en las raíces de maíz en la fase R1. Factores: Carbendazim (Sin y Con); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

Fase R1. En la fase R1 de la colonización total aumentó, donde el Carbendazim y el NPK ya tuvieron efectos significativos en la colonización total y en la producción de arbusculos por HMA (Tabla 1). La colonización fue mayor en los tratamientos sin Carbendazim y en los tratamientos donde no se aplicó NPK. En esta fase también se encontraron interacciones entre los factores Carbendazim y NPK en la producción de vesículas, donde la producción de vesículas solo se vio afectada por el NPK cuando se aplica el Carbendazim, mientras que cuando no se aplicó Carbendazim, el NPK no tuvo efectos en la producción de vesículas (Figura 7).

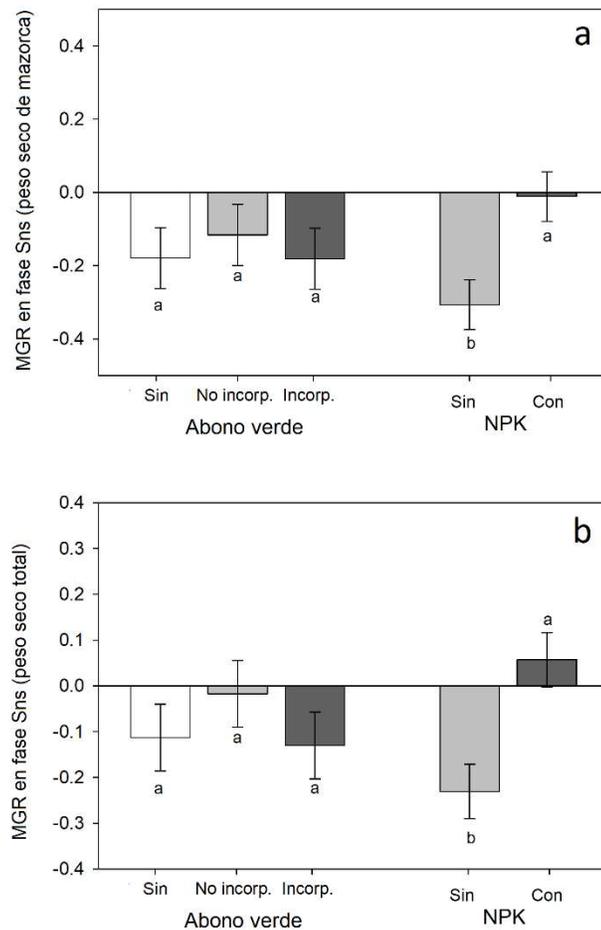


Figura 8. Gráfico de la respuesta del crecimiento de micorrizas sin Carbendazim (MGR) con los promedios de peso seco de mazorca (a) y peso seco total de maíz (b). Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher (P < 0.05).

En esta fase (R1) aún no se observaron diferencias entre tratamientos en la respuesta de crecimiento a la micorriza sin Carbendazim (MGR), ni en la respuesta de N en el tejido a la micorriza sin Carbendazim (MNR). Sin embargo, se observaron diferencias en la respuesta de fósforo, donde la aplicación de NPK, mitiga la disminución de la [P] en el tejido vegetal relacionada a la micorriza sin Carbendazim

Fase Sns. En esta fase, el NPK fomentó una respuesta de crecimiento positiva a la micorriza sin Carbendazim (Tabla 3). En ausencia de Carbendazim, el NPK mitigó la respuesta negativa a la micorriza en la mazorca (Figura 8a), e incluso promovió el crecimiento del peso total del maíz (Figure 8b). En cuanto a la adquisición de nutrientes, desde la fase Vt el NPK aumentó la MPR sin Carbendaim en el tejido vegetal (Figura 9a) y se reflejó en el grano (Figura 9c), igualmente el NPK mitigó esta respuesta negativa a la micorriza sin Carbendazim en el Nt en la mazorca (Figura 9b).

En esta fase se encontraron correlaciones entre la MGR sin Carbendazim de la mazorca y el rastrojo con una mayor producción de vesículas y arbusculos. Además, se encontraron correlaciones en la MNR y MPR en grano con la producción de arbusculos y vesículas en la fase R1, así como en colonización total (Tabla 4).

5.4 Discusión de resultados

Si bien los abonos verdes aportan materia orgánica y nutrientes para el cultivo, sus efectos en el crecimiento del maíz no sobresalieron. Lo que más afectó al crecimiento del maíz fueron las interacciones con los HMA, los cuales representaron una carga energética de C para la planta. No obstante, estos costos pueden modificarse con prácticas agrícolas de labranza y fertilización, siendo esta última un factor determinante que puede modular la respuesta de crecimiento a los HMA.

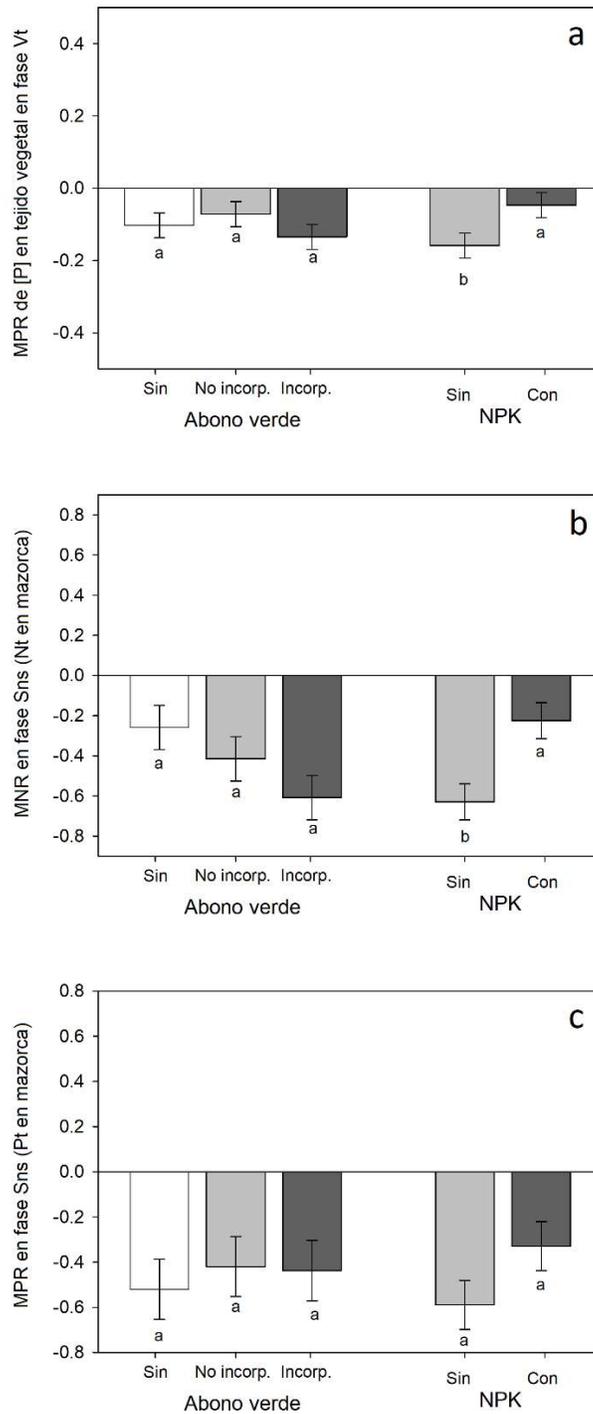


Figura 9. Respuesta de fósforo a la micorriza sin Carbendazim (MPR) de [N] en la fase Vt (a), respuesta de nitrógeno a la micorriza (MNR) en contenido de Nt en fase Sns (b) y respuesta de fósforo de micorriza (MPR) en contenido de Pt en fase Sns (C). Factores: Abono verde (Sin, No incorporado e Incorporado); y fertilización con NPK (Sin y Con). Se muestran sus barras de error. Letras diferentes en las barras significan diferencias significativas entre tratamientos según una prueba LSD de Fisher ($P < 0.05$).

El objetivo de la aplicación del Carbendazim en los tratamientos correspondientes fue para inhibir a los HMA, sin embargo, sus efectos se reflejaron en sólo un retraso de la colonización y este aplazamiento en la colonización se reflejó en una menor colonización de HMA y producción de estructuras como arbuscúlos y vesículas a más de la mitad respecto a los tratamientos sin Carbendazim. Por lo que los análisis de respuesta de crecimiento de la micorriza se realizaron tomando como referencia la aplicación o la ausencia de Carbendazim en los tratamientos.

Durante la fase de crecimiento hasta la fase Vt los efectos de los distintos tratamientos se observaron en la planta sólo cuando se aplicó NPK, lo cual era de esperarse ya que la nutrición es sumamente importante en la fase de crecimiento posterior al establecimiento de la plántula (Miller, 2000). En esta fase es muy probable que aún haya inmovilización de nutrientes en la microbiota que sigue descomponiendo los compuestos más recalcitrantes de los AV en el suelo (Jani et al., 2016). Sin embargo, el efecto del Carbendazim ya se reflejaba en la nutrición de la planta, ya que los tratamientos donde no se aplicó Carbendazim el contenido total de N y P en el tejido vegetal fue menor. En otros estudios se ha demostrado que, en etapas tempranas del crecimiento, los HMA juegan un papel más importante en la nutrición de la planta (Gavito y Miller, 1998; Miller, 2000; Grant et al, 2001), por lo que la sinergia en la interacción entre HMA el maíz es determinante y se reflejará en el posterior desarrollo de la planta (Gavito y Miller, 1998; Verlinden et al 2018).

Posteriormente, en la fase de senescencia (Sns) sólo el NPK tuvo efectos en el crecimiento total de la planta, sin embargo, el crecimiento y desarrollo de la mazorca ya se vieron afectados positivamente con el Carbendazim. También hubo interacción entre el Carbendazim y el NPK, ya que cuando se aplica, desaparecen los efectos del Carbendazim. Esto nos sugiere que, los HMA podrían representar una carga nutricional para el maíz (especialmente el C) (Johnson et al., 2015), ya que, cuando no hay abundancia de nutrientes en el suelo, la planta limita el crecimiento de toda

la planta pero principalmente la mazorca, y cuando se le agrega el NPK, el Carbendazim no promueve el crecimiento de la mazorca al comparar tratamientos con y sin fertilización, y reasigna ese exceso a la producción de rastrojo, posiblemente por la mayor disponibilidad de N que ofrecieron los AV en el suelo.

La mayor disponibilidad de N también se ve reflejada en un alto contenido de Nt en el grano cuando se usa AV, donde en ambos tratamientos con AV (incorporados y no incorporados en el suelo), se les proporcionó un aporte adicional de N que no se reflejó en los tratamientos donde no hubo control de HMA con Carbendazim. Sin embargo, cuando se analizan sólo los tratamientos con Carbendazim, si se nota el aporte de N de los AV en la planta (Figura 3b), siendo mayor en los tratamientos con el AV incorporado al suelo, en los cuales se favoreció el proceso de la mineralización (Jagadamma et al., 2007).

La mayor colonización de HMA en la fase Vt y R1 en los tratamientos sin Carbendazim se relacionó negativamente con la concentración de N en el grano en ambos tratamientos con AV, más no así en los tratamientos sin AV. En ese sentido, de la Cruz-Ortiz et al. (2020), encontraron que la colonización de HMA aumenta con niveles altos de C orgánico proveniente de los AV y disminuye la frecuencia de los HMA a medida que aumentan los niveles de nitrógeno inorgánico. Esto sugiere que al agregar materia orgánica en el suelo aumenta la competencia por N entre la microbiota edáfica, los HMA y la planta (Püschel et al., 2016; Thirkell et al., 2016). Además, en la interacción “Abono Verde ×NPK” se nota esa posible competencia ya que, en los tratamientos sin incorporación de materia con el AV, el maíz tuvo una respuesta más marcada entre tratamientos con y sin NPK. Esta competencia por el N entre HMA y el cultivo ya ha sido reportado en otros estudios (Hodge y Fitter, 2010; Hodge y Storer, 2015; Johnson et al., 2015; Püschel et al., 2016).

Ésta posible competencia al incorporar la materia orgánica de los AV no se vio reflejado en

la dinámica del P, donde los HMA juegan un papel más importante (Miller, 1995; Köhl et al., 2014), ya que no se observaron efectos de la incorporación de materia orgánica del janamargo en la concentración y contenido total de P. Sin embargo, el maíz en los tratamientos en los que se realizó control de HMA con Carbendazim, la concentración y contenido total de P en el grano fue mayor, al igual que en todos los tratamientos con NPK. Las diferencias en el contenido de P en las siguientes fases puede ser atribuido a los efectos del Carbendazim en la disponibilidad de P más que por la menor frecuencia de HMA. No obstante, ya en la fase R1, el NPK también influye en la evolución de la micorriza, ya que cuando se retrasa la colonización de las raíces del maíz con el Carbendazim y no se aplicó NPK hay una menor nutrición en la planta, y los HMA produjeron una mayor cantidad de vesículas. La alta producción de vesículas llenas de reservas de P para los HMA (Smith y Read, 2008; Smith y Smith, 2011), estuvieron correlacionadas con un menor contenido de P en la planta, lo que nos sugiere menos intercambio de P entre los HMA y la planta, que en este caso podría fomentarse con el NPK (Daft y Hogarth, 1983). Esta falta de sinergia se acentúa en la fase de senescencia, cuando se hace la translocación de nutrientes y tanto la planta como los HMA resignan sus recursos (Merrild et al., 2013). De igual manera, en esta fase se observaron correlaciones positivas entre la MGR, MNR y MPR con la producción de arbusculos y vesículas y la colonización total. La competencia por los nutrientes desfavorable para la planta en este agroecosistema, sólo se logra mitigar con el NPK, lo cual contrasta con muchos reportes (Treseder, 2004; Walder et al., 2012; Merrild et al., 2013).

Es importante señalar que el Carbendazim afecta a muchos otros hongos en el suelo que también pueden intervenir en la dinámica de nutrientes y competir por el nitrógeno disponible en el suelo, tanto los aportados por el NPK, como los que fueron producto de la mineralización del janamargo (Schweiger y Jakobsen. 1998; Yu et al., 2009). Dong et al. (2021) encontraron que el

uso de AV incrementa significativamente la abundancia de bacterias Gram positivas (Gram +), bacterias totales y hongos saprofitos. En ese sentido, con la aplicación de Carbendazim se puede favorecer a las bacterias nitrificantes, las cuales tienen menos competencia por el N con las plantas que los hongos y además liberaron NO_3^- en el suelo que la planta puede tomar rápidamente de la solución del suelo (Yu et al., 2009; Veresoglou et al., 2011). Esto se observa en la disponibilidad de NH_4^+ y NO_3^- , así como en la relación nitrato/amonio en los diferentes tratamientos. Así mismo, el disturbio del suelo provocado al incorporar el AV suele afectar a las bacterias del suelo (Mazzoncini et al., 2011), por lo que en los tratamientos donde no se incorporó el AV y se agregó NPK se fomentaron los procesos de nitrificación en el suelo hasta el final del ciclo de cultivo.

Al igual que en otros estudios (Ryan y Angus, 2003; Verbruggen et al., 2010) en este agroecosistema logramos observar que el establecimiento temprano de la micorriza en el maíz representó una inversión de C para la planta y no se observaron beneficios en la nutrición vegetal, lo cual contrasta con otros estudios (Smith y Read, 2008; Mikkelsen et al., 2008; Owen et al., 2010; Bakhshandeh et al., 2017). Así mismo, el Carbendazim sólo retrasó y disminuyó el establecimiento de la micorriza, lo que favoreció al cultivo en términos de mayor biomasa y nutrición. Esta situación contrasta con los paradigmas populares que sostienen que los HMA siempre van a representar un beneficio para la planta hospedera (Ryan y Graham, 2002; Verbruggen et al., 2012). Lo cual nos da la pauta de que debe fomentarse un manejo del agroecosistema enfocado a los HMA para evitar que el cultivo tenga una respuesta de crecimiento a la micorriza sin Carbendazim (MGR) negativa (Graham y Abbott, 2000, Ryan y Graham, 2002; Verbruggen et al., 2012).

En este estudio, el manejo de labranza mínima que se realizó en los tratamientos con AV sin incorporar, donde no se rompieron las redes de micelio, no representó un efecto positivo en el MGR, contrario a lo que han reportado otros estudios (Angus et al. 2015), pero si lo logró mitigar

un poco, y la misma situación fue con la incorporación de materia orgánica en el suelo, donde no se observó diferencia en las variables de respuesta del maíz sin Carbendazim (MGR, MNR, MPR) en los tratamientos con AV, respecto a los tratamientos control con barbecho. Diversos estudios han encontrado que los efectos benéficos de los HMA disminuyen en condiciones de alta fertilidad (Collins y Foster 2009), y que la fertilización crónica afecta negativamente a la diversidad de HMA, lo que implica una reducción del mutualismo en la simbiosis hongo-planta (Ma et al., 2018). En contraste, también se ha observado una tendencia inversa en la diversidad de HMA con la aplicación de fertilizantes inorgánicos combinados con abonos orgánicos (Verbruggen et al., 2010; Ma et al., 2018). Otros estudios han referido la importancia de los niveles de P para favorecer la sinergia entre HMA y las plantas y se ha encontrado que la fertilización con N aumenta diversidad de especies de HMA en suelos con limitación de P, pero causa reducciones en suelos con altas concentraciones P (Egerton-Warburton et al., 2007; Cheng et al., 2013). En este estudio, es de resaltar que la fertilización mineral moderada que se realizó en los tratamientos con NPK se logró un MGR positivo para el peso total y además se mitigó el MNR y el MPR en la mazorca, lo que nos sugiere que la fertilización mineral es el factor más importante de manejar en este agroecosistema para obtener respuestas positivas del cultivo a la micorriza (Ryan y Graham, 2002).

Es posible que debido a las diferentes prácticas de cultivo intensivas implementadas históricamente en este agroecosistema (labranza y fertilización intensiva), previo a la realización de este estudio se hayan seleccionado ciertos fenotipos de HMA que ya no responden a las prácticas de labranza, pero si responden de manera positiva al manejo combinado de fertilización mineral con incorporación de materia orgánica (Miller et al., 1995; Verbruggen y Kiers, 2010; Higo et al., 2020). La combinación de incorporación de materia orgánica y una fertilización mejor diseñada parece ser el camino a maximizar los beneficios de las micorrizas arbusculares en este

agroecosistema, sin embargo, es necesario realizar estudios más detallados en la dinámica del N, P y C en sus diferentes fracciones químicas a lo largo de todo el ciclo para determinar las etapas más adecuadas realizar siembra del maíz y la fertilización mineral para hacer más eficiente la absorción de nutrientes por el cultivo y reciclaje de nutrientes en el suelo (Johnson et al., 1997; Johnson et al., 2010; Thirkell et al., 2017).

5.5 Conclusiones

En este agroecosistema las formas de aplicación de los AV (incorporados y no incorporados) no presentan efectos diferenciales en la producción de biomasa y contenido de nutrientes en la mazorca, pero con una fertilización mineral moderada, se vio favorecida una respuesta de crecimiento positiva a los HMA en ausencia de Carbendazim. Se encontró una correlación entre el rendimiento y nutrición del maíz con la producción de vesículas y arbuscúlos por los HMA, que se relacionó con una respuesta de crecimiento negativa del maíz a la micorriza sin Carbendazim, lo que sugiere una posible competencia por los nutrientes entre los diferentes hongos y la planta, no obstante, la fertilización mineral moderada puede mitigar este efecto.

Cuando los AV no se incorporaron en el suelo se observó más nitrificación al final del experimento, lo que nos da indicios de que sus efectos pueden ser acumulativos para el siguiente ciclo agrícola y podrían aumentar considerablemente los servicios ecosistémicos que proporcionan estos agroecosistemas, por lo que es importante investigar sus efectos a largo plazo con el fin de disminuir la fertilización mineral en los cultivos.

Agradecimientos

Agradecemos al Posgrado de Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) y al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo al estudiante David A. Ortiz-Salgado (beca número 447991). También queremos agradecer al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por los fondos del proyecto de ciencia básica 179319. Finalmente queremos extender los agradecimientos a Rodrigo Velázquez Duran y a Ana Lidia Sandoval por el apoyo técnico en el Laboratorio de Biogeoquímica de Suelos y en el Laboratorio Nacional de Innovación Ecotecnológica para la Sustentabilidad (LANIES), ambos en el IIES, UNAM.

5.6 Referencias

- Abdalla, M., Hastings, M., Helmyc, M., Prescher, A., Osborne, B., Lanigane, G., Forristal, D., Killi, D. Maratha, P., Williams, M., Rueangritsarakul, K., Smith, P., Nolang, P., Jones, M. 2014. Assessing the combined use of reduced tillage and cover crops for mitigating greenhouse gas emissions from arable ecosystem. *Geoderma* 223–225, 9–20.
- Alguacil, M., Torrecillas, E., García-Orenes, F., Roldán, A. 2014. Changes in the composition and diversity of AMF communities mediated by management practices in a Mediterranean soil are related with increases in soil biological activity. *Soil Biol. Biochem.* 76, 34–44.
- Angus JF, Kirkegaard JA, Hunt JR, Ryan MH, Ohlander L, Peoples MB. 2015. Break crops and rotations for wheat. *Crop & Pasture Science* 66: 523–552.
- Bakhshandeh S, Corneo PE, Mariotte P, Kertesz MA, Dijkstra FA. 2017. Effect of crop rotation on mycorrhizal colonization and wheat yield under different fertilizer treatments. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 247: 130–136.
- Boddington C. y Dodd J. 2000. The effect of agricultural practices on the development of

- indigenous arbuscular mycorrhizal fungi. I. Field studies in an Indonesian ultisol. *Plant and Soil*, **218**:137–144.
- Bremmer, J. 1996. Nitrogen-total. In: Spark D. Page A., Summer M., Tabatabai M., Helmke P. (Eds.), *Methods of soil analyses part 3: chemical analyses*. Soil Science Society of America, Wisconsin, pp. 1085–1121.
- Cheng Y., Ishimoto K., Kuriyama Y., Osaki M. y Ezawa T. 2013. Ninety-year-, but not single, application of phosphorus fertilizer has a major impact on arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Plant Soil* **365**:397–407.
- Cherr, C., Scholberg, J., McSorley, R. 2006. Green manure approaches to crop production: A synthesis. *Agronomy J.* 98, 302–319.
- Collins C. y Foster B. 2009. Community-level consequences of mycorrhizae depend on phosphorus availability. *Ecology* **90**:2567–2576
- de la Cruz-Ortiz A., Álvarez-Lopezello J., Robles C. y Hernández-Cuevas L. 2020. Tillage intensity reduces the arbuscular mycorrhizal fungi attributes associated with *Solanum lycopersicum*, in the Tehuantepec Isthmus (Oaxaca), Mexico. *Applied Soil Ecology* **149**:103519.
- Daft MJ, Hogarth BG. 1983. Competitive interactions amongst four species of *Glomus* on maize and onion. *Transactions of the British Mycological Society* 80: 339–345.
- Dong N., Hu G., Zhang Y., Qi J., Chen Y. y Hao Y. 2021. Effects of green-manure and tillage management on soil microbial community composition, nutrients and tree growth in a walnut orchard. *Scientific Reports*, **11**:16882.
- Egerton-Warburton L., Johnson N. y Allen E. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol Monogr* **77**:527–544.
- Fitter, A.H. and Nichols, R. 1988. The use of benomyl to control infection by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 110:201-206.
- Finn D., Kopittke, P. M., Dennis, P. G., y Dalal, R. C. 2017. Microbial energy and matter

- transformation in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 111:176–192.
- García, E. 2004. *Modificaciones al Sistema de Clasificación de Köpen*. Instituto de Geografía, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F., México, 90 pp.
- Gavito, M.E. and Miller, M.H. 1998. Early phosphorus nutrition, mycorrhizae development, dry matter partitioning and yield of maize. *Plant and soil* 199:177-186.
- Graham JH, Abbott LK. 2000. Wheat responses to aggressive and nonaggressive arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 220: 207–218.
- Grant, C.A., Flaten, D.N., Tomasiewicz, D.J. and Sheppard, S.C. 2001. The importance of early season phosphorus nutrition. *Canadian Journal of Plant Science* 81:211-224.
- Higo, M., Tatewaki, Y., Iida, K., Yokota, K., Isobe, K. 2020. Amplicon sequencing analysis of arbuscular mycorrhizal fungal communities colonizing maize roots in different cover cropping and tillage systems. *Sci. Rep.* 10: 6039.
- Hodge A, Fitter AH. 2010. Substantial nitrogen acquisition by arbuscular mycorrhizal fungi from organic material has implications for N cycling. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 107: 13754–13759.
- Hodge A, Storer K. 2015. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant and Soil* 386: 1–19.
- INEGI. 1979. Carta de edafología, Cuitzeo E14A13, scale 1:50 000; Carta de edafología, Morelia E14A23, scale 1:50 000.
- Jagadamma, S., Lal, R., Hoefl, R., Nafziger E., Adee, E. 2007. Nitrogen fertilization and cropping systems effects on soil organic carbon and total nitrogen pools under chisel-plow tillage in Illinois. *Soil Tillage Res.* 95, 348–356.
- Jani, A., Grossman, J., Smyth, T., Hu, S. 2016. Winter legume cover-crop root decomposition and N release dynamics under disking and roller-crimping termination approaches. *Renew. Agric. Food Syst.* 31, 214–229.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I., Frossard, E. 2002. Diversity and structure

- of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12, 225–234.
- Johnson NC, Graham JH, Smith FA. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism–parasitism continuum. *New Phytologist* 135: 575–585.
- Johnson NC, Wilson GWT, Bowker MA, Wilson JA, Miller RM. 2010. Resource limitation is a driver of local adaptation in mycorrhizal symbioses. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 107: 2093–2098.
- Johnson NC, Wilson GWT, Wilson JA, Miller RM, Bowker MA. 2015. Mycorrhizal phenotypes and the law of the minimum. *New Phytologist* 205:1473–1484.
- Kahiluoto, H., Ketoja, E., and Vestberg, M. 2000. Creation of a non-mycorrhizal control for a bioassay of AM effectiveness. 1. Comparison of methods. *Mycorrhiza* 9: 241–258.
- Köhl L, Oehl F, van der Heijden MGA. 2014. Agricultural practices indirectly influence plant productivity and ecosystem services through effects on soil biota. *Ecological Applications* 24: 1842–1853.
- Kormanik, P., McGraw, A. 1982. Quantification of vesicular-arbuscular mycorrhizae in plant roots. In: Schenck N. (Ed.), *Methods and Principles of Mycorrhizal Research*, American Phytopathological Society, St Paul (1982), pp. 37–45.
- Kuo, S, Huang, B, Bembenek, R 2001. Effect of winter cover crops on soil nitrogen availability, corn yield, and nitrate leaching. *Sci. World J.* 2, 22–29.
- Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M. y González-Esquivel C. 2015. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **15**(2):449-463.
- Ma M., Ongena M., Wang Q., Guan D., Cao F., Jiang X. y Li J. 2018. Chronic fertilization of 37 years alters the phylogenetic structure of soil arbuscular mycorrhizal fungi in Chinese Mollisols. *AMB Expr.* **8**:57.
- Mazzoncini, M., Bahadur, Sapkota, T., Bárberi, P., Antichi, D., Risaliti, R. 2011. Long-term effect of tillage, nitrogen fertilization and cover crops on soil organic carbon and total nitrogen

content. *Soil Tillage Res.* 114, 165–174.

McDaniel M, Tiemann L, y Grandy A. 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications*, 24:560-570.

McGonigle, P., Millers, M., Evans, D., Fairchild, G., Swam, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115, 495–501.

Miller MH, McGonigle TP, Addy HD. 1995. Functional ecology of vesicular Arbuscular mycorrhizas as influenced by phosphate fertilization and tillage in an agricultural ecosystem. *Critical Reviews in Biotechnology* 15: 241–255.

Miller, M.H. 2000. Arbuscular mycorrhizae and the phosphorus nutrition of maize: a review of Guelph studies. *Canadian Journal of Plant Science* 80:47-52.

Mikkelsen, B.L, Rosendahl, S. and Jakobsen, I. 2008. Underground resource allocation between individual networks of mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 180:890-898.

Merrild, M.P., Ambus, P., Rosendahl, S. and Jakobsen, I. 2013. Common arbuscular mycorrhizal networks amplify competition for phosphorus between seedlings and established plants. *New Phytologist* 200:229-240.

Murphy, J., Riley J. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 27, 31–36.

O'Connor, P., Manjarrez, M., and Smith, S. E. 2009. The fate and efficacy of benomyl applied to field soils to suppress activity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 55:901-904.

Owen KJ, Clewett TG, Thompson JP. 2010. Pre-cropping with canola decreased *Pratylenchus thornei* populations, arbuscular mycorrhizal fungi, and yield of wheat. *Crop & Pasture Science* 61: 399–410.

Power A. 2010. Ecosystem services and agriculture: tradeoffs and synergies. *Philosophical*

Transactions of the Royal Society B, **365**:2959–2971.

- Püschel D, Janousková M, Hujšlová M, Slavíková R, Gryndlerová H, Jansa J. 2016. Plant–fungus competition for nitrogen erases mycorrhizal growth benefits of *Andropogon gerardii* under limited nitrogen supply. *Ecology and Evolution* 6: 4332–4346.
- Robacer, M., Canali, S., Lakkenborg-Kristensen, H., Bavec, F., Grobelnik-Mlakar, S., Jakop, M., Baveca, M. 2016. Cover crops in organic field vegetable production. *Sci. Hort.* 208, 104–110.
- Robertson, P., Coleman, D., Bledsoe, C., Sollins, P. 1999. Standard soil methods for long-term ecological research (LTER). University Press, Oxford, New York, pp. 258-271.
- Ryan MH, Angus JF. 2003. Arbuscular mycorrhizae in wheat and field pea crops on a low P soil: increased Zn-uptake but no increase in P-uptake or yield. *Plant and Soil* 250: 225–239.
- Ryan MH, Graham JH. 2002. Is there a role for arbuscular mycorrhizal fungi in production agriculture? *Plant and Soil* 244: 263–271.
- Sawers R., Gutjahr C. y Paszkowski U. 2008. Cereal mycorrhiza: an ancient symbiosis in modern agriculture. *Trends in plant science*, 13:93–97.
- Snapp S., Swinton S., Labarta R., Mutch D., Black J., Leep R., Nyiraneza J. y O’Neil K., 2005. Evaluating cover crops for benefits, costs and performance within cropping system niches. *Agronomy Journal*, **97**:322–332.
- Schalamuk S. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with spring wheat: effects of tillage. *Micología*, 98:16–22.
- Schipanski M., Barbercheck M., Douglas M., Finney D., Haider K., Kaye J., Kemanian A., Mortensen D., Ryan M., Tooker J. y White C. 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, 125:12–22.
- Schweiger, R. and Jakobsen, I. 1998. Dose response relationships between four pesticides and phosphorus uptake by hyphae of arbuscular mycorrhizas. *Soil Biol. Biochem.* 30:1415-1422.

- Scopel, E., Tardieu, G., Edmeades A., Sebillotte, M. 2001. Effects of Conservation Tillage on Water Supply and Rainfed Maize Production in Semiarid Zones of West-Central Mexico. NRG.: CIMMYT. México D.F. 24 pp.
- Smith SE, Read DJ. 2008. Mycorrhizal symbiosis, 3rd edn. Oxford, UK: Academic Press.
- Smith SE, Smith FA. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62: 227–250.
- Smith S., Smith F. y Jakobsen I. 2004. Functional diversity in arbuscular mycorrhizal (AM) symbioses: the contribution of the mycorrhizal P uptake pathway is not correlated with mycorrhizal responses in growth or total P uptake. *New Phytologist*, 162:511–524.
- Stürmer S., y Siqueira J. 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza*, 21:255–267.
- Thirkell TJ, Cameron DD, Hodge A. 2016. Resolving the ‘nitrogen paradox’ of arbuscular mycorrhizas: fertilization with organic matter brings considerable benefits for plant nutrition and growth. *Plant, Cell & Environment* 39: 1683–1690.
- Thirkell TJ, Charters MD, Elliott AJ, Sait SM, Field KJ. 2017. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *Journal of Ecology* 105: 921–929.
- Thorup-Kristensen, K., Magid, J., Jensen, L.S., 2003. Catch crops and green manures as biological tools in nitrogen management in temperate zones. *Advances in Agronomy*, 79:227–301.
- Treseder, K.K. 2004. A meta-analysis of mycorrhizal responses to nitrogen, phosphorus, and atmospheric CO₂ in field studies. *New phytologist* 164: 347-355.
- Verbruggen E, Kiers ET. 2010. Evolutionary ecology of mycorrhizal functional diversity in agricultural systems. *Evolutionary Applications* 3: 547–560.
- Verbruggen E, Kiers ET, Bakelaar PNC, Röling WFM, van der Heijden MGA. 2012. Provision of contrasting ecosystem services by soil communities from different agricultural fields. *Plant*

and Soil 350: 43–55.

- Verbruggen E, Rölting WFM, Gamper HA, Kowalchuk GA, Verhoef HA, van der Heijden MGA. 2010. Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: largescale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. *New Phytologist* 186: 968–979.
- Veresoglou, S., Sen, R., Mamolos, A., Veresoglou, D. 2011. Plant species identity and arbuscular mycorrhizal status modulate potential nitrification rates in nitrogen-limited grassland soils. *J. Ecol.* 99:1339–1349.
- Verlinden, M., Ven, A., Verbruggen, E., Janssens, I., Wallander, H. y Vicca, S. 2018. Favorable effect of mycorrhizae on biomass production efficiency exceeds their carbon cost in a fertilization experiment. *Ecology* 0(0):1–10.
- Yang, H., Zhang, Q., Dai, Y. et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on plant growth depend on root system: a meta-analysis. *Plant Soil* 389, 361–374.
- Yu, Y., Chu, X., Pang, G., Xiang, Y. y Fang, H. 2009. Effects of repeated applications of fungicide Carbendazim on its persistence and microbial community in soil. *Journal of Environmental Sciences* 21:179-185.
- Wahbi, S., Prin, Y., Thioulouse, J., Sanguin, H., Baudoin, E., Maghraoui, T., Duponnois, R. 2016. Impact of wheat/faba bean mixed cropping or rotation systems on soil microbial functionalities. *Front. Plant Sci.* 7, 1364.
- Walder F, Niemann H, Natarajan M, Lehmann MF, Boller T, Wiemken A. 2012. Mycorrhizal networks: common goods of plants shared under unequal terms of trade. *Plant Physiol.* 159:789–797.

Material Suplementario

Table 1. p values of all variables measured from three-way ANOVA of the factors A (Green manure), B (Carbendazim) and C (NPK) and their factor combinations (n=5).

Variables	A	B	C	A×B	A×C	B×C	A×B×C
Total maize weight (Vt)	0.23	0.19	*< 0.01	0.79	0.85	0.57	0.45
Total maize weight (R1)	0.82	0.09	*0.04	0.20	0.88	0.23	0.77
Cob weight (R1)	0.70	*0.05	*0.02	0.24	0.84	0.12	0.82
Nt in plant (R1)	0.82	*0.00	*< 0.01	0.40	0.32	0.08	0.98
Pt in plant (R1)	0.93	*0.01	*< 0.01	0.83	0.95	0.76	0.79
Total maize weight (Sns)	0.61	0.31	*< 0.01	0.64	0.98	*0.02	0.97
Cob weight (Sns)	0.46	*0.03	*< 0.01	0.89	0.74	*0.04	0.93
Stover weight (Sns)	0.82	0.98	*0.04	0.56	0.90	*0.03	0.97
Maize Cob/Stover ratio	0.42	*< 0.01	*< 0.01	0.72	0.39	0.97	0.52
Nt in grain	0.50	*< 0.01	*< 0.01	*0.05	0.36	0.24	0.54
Pt in grain	0.78	*< 0.01	*< 0.01	0.90	0.24	0.72	0.82
Productivity	0.52	*0.05	*< 0.01	0.91	0.66	*0.04	0.89
[N] in grain	0.75	*< 0.01	*< 0.01	*< 0.01	*< 0.01	0.51	0.46
[P] in grain	0.97	*< 0.01	*< 0.01	0.93	0.10	0.30	0.90
NH ₄ ⁺ tf	0.79	*0.01	0.47	0.75	0.37	0.59	0.60
NO ₃ ⁻ t1	0.37	*< 0.01	*< 0.01	0.87	*0.02	0.34	0.91
AMF colonization (Vt)	0.45	*< 0.01	0.69	0.17	0.11	0.37	0.44
AMF vesicles (Vt)	0.45	*< 0.01	0.17	0.47	0.27	0.31	0.62
AMF arbuscules (Vt)	0.51	*< 0.01	*0.04	0.47	0.33	0.31	0.90
AMF colonization (R1)	0.72	*< 0.01	*0.05	0.47	0.56	0.69	0.55

AMF vesicles (R1)	0.71	*< 0.01	0.19	0.89	0.53	*0.05	0.84
AMF arbuscules (R1)	0.53	*0.04	0.26	0.81	0.83	0.98	0.86
MGR total maize weight	0.51	na	*< 0.01	1.00	na	na	na
MGR cob dry weight	0.82	na	*0.01	0.97	na	na	na
MNR Nt in cob	0.11	na	*0.01	0.74	na	na	na
MPR Pt in cob	0.85	na	0.11	0.98	na	na	na
MNR [N] in cob	*< 0.01	na	0.09	0.29	na	na	na
MPR [P] in cob	0.83	na	0.71	0.99	na	na	na

* *p*-value with significant differences

Supplementary material

Table 2. Mean values of all the variables measured during the experiment in the different treatments. Factors: Green manures (Without Green manure, Green manure Not incorporated and Green manure Incorporated); AMF control with Carbendazim (With Carbendazim and without Carbendazim); and mineral fertilization (Without NPK and with NPK).

Variable	Without Green manure				Green manure not incorporated				Green manure incorporated			
	Without Carbendazim		Carbendazim		Without Carbendazim		Carbendazim		Without Carbendazim		Carbendazim	
	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK
Total maize weight (Vt) (g)	34.8	48.4	42.6	64.5	36.3	55.1	46.6	54.2	50.3	60.3	44.1	74.8
Total maize weight (R1) (g)	155	173	169	194	154	158	188	224	179	188	149	209
Cob weight (R1) (g)	20.5	25.1	23.3	32.8	22.5	21.4	28.7	41.8	24.2	29.5	19.6	34.9
Nt in plant R1 (g)	2.2	3.0	2.1	3.9	2.0	2.2	2.8	3.8	1.8	2.9	2.0	3.8
Pt in plant (R1) (g)	0.3	0.4	0.4	0.6	0.3	0.4	0.4	0.6	0.3	0.5	0.4	0.6
Total maize weight (Sns) (kg/UE)	14.3	22.2	18.4	21.3	15.2	23.2	17.8	20.1	15.7	22.7	19.7	22.4
cob weight (Sns) (kg/UE)	6.0	11.1	8.1	11.4	6.6	11.2	8.6	10.7	7.0	11.5	9.1	11.8
Stover weight (Sns) (kg/UE)	8.3	11.1	10.3	9.8	8.6	12.0	9.1	9.4	8.7	11.2	10.6	10.6
Maize Cob/Stover ratio	0.7	1.0	0.8	1.2	0.8	0.9	0.9	1.2	0.8	1.1	1.0	1.1
Nt in grain (g/UE)	76	206	120	203	85	179	157	214	88	158	172	249
Pt in grain (g/UE)	27	74	48	106	35	68	58	87	37	72	59	97
Grain productivity (tons/ha)	8.8	16.0	11.5	16.6	9.6	16.1	12.5	15.2	10.0	16.6	13.1	16.8

Variable	Without Green manure				Green manure not incorporated				Green manure incorporated			
	Without Carbendazim		Carbendazim		Without Carbendazim		Carbendazim		Without Carbendazim		Carbendazim	
	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK
Stover productivity (tons/ha)	10.4	13.9	12.9	12.3	10.7	15.0	11.4	11.8	10.9	14.0	13.2	13.2
[N] in grain (mg/g)	12.5	18.3	14.6	19.4	12.6	16.0	18.0	19.8	12.5	13.6	19.0	21.1
[P] in grain (mg/g)	4.4	6.6	5.8	9.2	5.1	6.1	6.7	8.0	5.2	6.2	6.6	8.2
NH ₄ ⁺ in soil (µg/g)	0.3	0.6	0.8	0.9	0.5	0.7	0.8	0.8	0.7	0.5	0.8	0.8
NO ₃ ⁻ in soil (µg/g)	5.8	11.4	10.8	22.4	6.7	19.9	10.4	27.3	11.1	10.8	17.7	19.3
AMF colonization (Vt) (%)	86	77	40	43	75	84	49	53	84	74	45	42
AMF vesicles (Vt) (%)	24	14	5	3	17	18	7	8	18	14	3	3
AMF arbuscules (Vt) (%)	34	23	12	5	26	25	12	14	30	17	10	6
AMF colonization (R1) (%)	75	64	47	31	78	81	42	33	83	71	39	35
AMF vesicles (R1) (%)	15	17	9	3	17	20	8	5	18	16	10	4
AMF arbuscules (R1) (%)	12	8	10	1	13	12	5	2	19	14	7	7

Table 3. Mycorrhizal growth response (MGR), mycorrhizal nitrogen response (MNR) and mycorrhizal phosphorous response (MPR) values in the different treatments. Factors: Green manures (Without Green manure, Green manure Not incorporated and Green manure incorporated); and mineral fertilization with NPK (Without NPK and with NPK).

Variable	Without Green manure		Green manure Not incorporated		Green manure Incorporated	
	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK	Without NPK	NPK
MGR total maize weight	-0.258	0.032	-0.165	0.130	-0.270	0.009
MGR cob dry weight	-0.316	-0.043	-0.280	0.047	-0.324	-0.038
MNR Nt in cob	-0.496	-0.022	-0.653	-0.178	-0.740	-0.477
MPR Pt in cob	-0.646	-0.394	-0.571	-0.269	-0.550	-0.325
MNR [N] in cob	-0.164	-0.065	-0.365	-0.215	-0.420	-0.439
MPR [P] in cob	-0.312	-0.342	-0.288	-0.303	-0.238	-0.289

Table 4. Correlations between variables of AMF colonization and mycorrhizal growth response (MGR) of cob, stover and total weight: mycorrhizal nitrogen response (MNR); and mycorrhizal phosphorous response (MPR) in R1 phase.

Variables	MGR Mazorca	MGR Rastrojo	MGR ptotal	MNR	MPR
% HMA	-0.51	-0.49	ns	-0.59	-0.44
% Vesículas	ns	-0.52	ns	ns	ns
% Arbúsculos	ns	-0.57	ns	-0.68	-0.59
% Vesicles+Arbuscules	ns	ns	ns	-0.63	-0.57

ns = no significant correlations between variables.

Table 5. Correlations between variables of AMF colonization and mycorrhizal growth response (MGR) of cob, stover and total weight: mycorrhizal nitrogen response (MNR); and mycorrhizal phosphorous response (MPR) in R1 phase.

Variables	MGR Mazorca	MGR Rastrojo	MGR ptotal	MNR Nt	MPR Pt	MNR [N]	MPR [P]
% HMA	-0.51	-0.49	ns	-0.59	-0.44	-0.46	ns
% Vesículas	ns	-0.52	ns	ns	ns	ns	ns
% Arbúsculos	ns	-0.57	ns	-0.68	-0.59	-0.46	ns
% Vesicles + Arbuscules	ns	ns	ns	-0.63	-0.57	-0.42	ns

ns = no significant correlations between variables.

CAPÍTULO 6

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

6.1 Discusión general

En esta investigación se obtuvieron evidencias de como diferentes prácticas agrícolas como la incorporación de materia orgánica, el disturbio del suelo como la labranza, la fertilización mineral y la rotación de cultivos con abonos verdes afectan la dinámica de nutrientes entre los diferentes componentes del suelo (Planta-suelo-microbios). Así mismo, se obtuvieron evidencias de cómo el manejo de estas prácticas agrícolas pueden afectar las interacciones entre la planta y los HMA. La discusión se abordará acorde a estas prácticas agrícolas emuladas y evidencias encontradas en las diferentes condiciones de los experimentos.

6.1.1 Importancia de la incorporación de materia orgánica en la fertilidad del suelo

La incorporación de materia orgánica es fundamental para fomentar la actividad de la microbiota edáfica y promover el reciclaje de nutrientes, sin embargo, en esta investigación hubo dos escenarios principales en los agroecosistemas que tuvieron resultados contrastantes. Uno fue en donde los nutrientes fueron el recurso limitante, y otro en el que hubo mucha disponibilidad. Cuando se incorporó materia orgánica en los agroecosistemas ultra fertilizados inicialmente se observó una inmovilización de nutrientes que pudo afectar su disponibilidad para el siguiente cultivo de maíz. Diversos estudios han mostrado que cuando se aplica NPK y se incorpora la materia orgánica, los microorganismos mineralizadores son más eficientes en la adquisición de nutrientes y se promueve una mineralización más rápida de la materia orgánica (Schomberg et al., 2006; Tejada et al., 2008), sin embargo, inicialmente hay una inmovilización de los nutrientes (Chaves et al., 2004; Schomberg et al., 2006; Piotrowska y Wilczewski, 2012). En suelos con alta disponibilidad de nutrientes, la inmovilización de los mismos posiblemente sucedió debido a que cuando se incorporó la materia orgánica de la parte aérea del janamargo, que está más nitrogenada y se descompone rápidamente, los nutrientes disponibles en el suelo fueron usados por la

microbiota edáfica encargada la descomposición, despolimerización y mineralización de la materia orgánica y los nutrientes liberados del janamargo estuvieron inmovilizados por más de 19 días. Los nutrientes de los AV también pueden provocar cambios en la estructura y composición de la comunidad microbiana con condiciones que favorecen el ciclo de C, N y P (Dong et al., 2021), por lo que estos nutrientes se irán reciclando y liberando en el suelo conforme disminuya la cantidad de materia orgánica y los microorganismos mueran. No obstante, hay una parte de los nutrientes provenientes del janamargo que pueden estar disponibles para la planta del cultivo principal, ya que, los nutrientes del material orgánico de las raíces, que son más recalcitrantes, presentan una mineralización más lenta y constante, por lo que serán liberados de manera constante por más tiempo, y podrán ser usados para el siguiente cultivo en rotación. En contraste, en sistemas con deficiencia de nutrientes esa inmovilización de nutrientes no se observó de manera tan drástica ya que, posiblemente la descomposición de la materia orgánica fue más lenta y la planta puede competir mejor para absorber los nutrientes en esas condiciones.

Dentro de los tres tipos de nutrientes estudiados (NH_4^+ , NO_3^- , HPO_4^{2-}) el amonio fue el más reactivo y, a pesar de que los valores iniciales fueron bajos en todos los escenarios, posiblemente fue ocupado por todos los componentes del agroecosistema. Si bien, siempre hubo valores bajos de NH_4^+ , se incrementó su disponibilidad en el suelo con la incorporación de materia orgánica, ya que la descomposición de la misma representó una a fuente de amonio constante para los microorganismos que continúan en el proceso de descomposición del material orgánico. Además, el amonio, al ser un elemento fácil de absorber tanto por las plantas, como sobre todo por microorganismos (Castro y Whalen, 2016), es muy común que rápidamente se vaya a procesos de nitrificación (Cui et al., 2017), y sus valores bajen rápidamente y se expresen en forma de nitratos o se haya transferido a las plantas o inmovilizado en la microbiota edáfica (White, 2016; White et al., 2019).

Por su parte, el NO_3^- disponible en el suelo mostró una dinámica más definida en ambos escenarios de disponibilidad inicial de N en el suelo (alta y baja disponibilidad). En el escenario con baja disponibilidad de NO_3^- en el suelo al inicio del experimento, después de crecer el janamargo, con su respectiva fijación de nitrógeno atmosférico (García-Garijo et al., 2014), y después de la mineralización de una parte de la materia orgánica y antes de sembrar el maíz, el NO_3^- disponible aumentó. Por otro lado, en el escenario con alta disponibilidad de nutrientes, los procesos de nitrificación se dieron con mayor intensidad y aumentaron su disponibilidad y en casos extremos, podrían provocar eutrofización del nitrato con la lixiviación. Sin embargo, la incorporación de materia orgánica en estos agroecosistemas puede servir para inmovilizar el nitrato en la microbiota edáfica y evitar su lixiviación y además proporcionar suficiente cantidad de este nutriente para el maíz.

En esta investigación, la dinámica de P sólo se evaluó en sistemas con deficiencia en su disponibilidad y al igual que en otros estudios, la incorporación de materia orgánica es favorable para aumentar su disponibilidad, debido a que tanto los microorganismos como las plantas responden rápidamente a cualquier suministro de fósforo (Chen y Zhao, 2009; Campos et al., 2018; Martino et al., 2018). Además, se ha documentado que los AV pueden afectar el ciclo del P del suelo en las capas más profundas del suelo (Arruda et al., 2021). En ese sentido, el aumento de su disponibilidad después de la cosecha del cultivo principal sugiere que sus efectos en la disponibilidad del HPO_4^{2-} son acumulativos en los siguientes ciclos agrícolas (Tejada et al., 2008; Karasawa y Takahashi, 2015; Hallama et al., 2019; Pandey et al., 2017).

6.1.2 Modelo del flujo de nutrientes en el agroecosistema con rotación con AV (janamargo-maíz)

La incorporación de janamargo en el suelo podría aportar suficiente nitrógeno y fósforo orgánico al suelo para que posteriormente pueda desarrollarse el maíz (FAO, 2003), sin embargo, la

dinámica de los nutrientes es afectada por la activación de la microbiota edáfica y gran parte de este nitrógeno y fósforo se inmoviliza inicialmente en los microorganismos por lo que es muy importante profundizar en el estudio de toda la descomposición completa del janamargo y se debe tomar en cuenta para crear una estrategia más apropiada en siembra del maíz y hacer un uso más rentable de nutrientes en el agroecosistema.

En ese sentido, si se toma como estrategia de rotación de cultivo como AV al janamargo en un sistema con riego, se debe considerar que para iniciar el ciclo, el janamargo se siembra al principio del invierno, por lo que crecerá muy bien durante los meses fríos de las zonas templadas en México. Dado el ciclo de vida corto del janamargo, su floración se presenta alrededor de las 12 semanas o antes, por lo que, a finales del invierno cuando comience la floración se recomienda cosechar e incorporar en el suelo para iniciar la despolimerización y mineralización de su materia orgánica. En ese sentido, las hojas de janamargo tienen una relación C/N alrededor de 10 (Radicetti *et al.*, 2017), lo que representa que se pueden mineralizar rápidamente y la liberación de sus nutrientes se puede dar en un aumento rápido inicialmente. Por su parte, las raíces tienen una C/N alrededor de 14 (Jani *et al.*, 2016) y con una mayor cantidad de lignina, lo cual las hace más recalcitrantes que la parte aérea y su descomposición será más lenta pero constante debido a esa diferencia en la estequiometría de sus tejidos vegetales. (Puget y Drinkwater, 2001). Otros estudios han mostrado que a las 8 semanas se ha mineralizado más de la mitad de la materia orgánica de la parte aérea (Schomberg y Endale, 2004), y que la parte radical presenta una mineralización más tardada, quedando el 25% del N en su biomasa a las 16 semanas (Jani *et al.* 2016), y puede seguir este proceso hasta por 20 semanas (Quemada y Cabrera, 1995). Posteriormente, se siembra el maíz a la mitad de la primavera para que tenga una alta disponibilidad de N y otros nutrientes disponibles durante su crecimiento y sólo requerir fertilización mineral como complemento al momento de la formación de la mazorca y se pueda cosechar a finales del verano y empezar nuevamente el ciclo de rotación de los cultivos.

6.1.3 Efectos de la labranza y perturbación del suelo con AV

De todas las prácticas agrícolas estudiadas en esta investigación, y en cualquier escenario de disponibilidad de nutrientes, la labranza del suelo fue la práctica que más afectó negativamente al maíz y los HMA, al igual que otros estudios (Larsen et al., 2015; Finn et al., 2017; Ryan y Graham, 2018; Ortiz-Salgado et al., 2021). Por otro lado, los efectos de la perturbación del suelo provocado por la incorporación de los abonos verde en el suelo fueron menos pronunciados que el disturbio provocado por la labranza previa a la siembra del maíz. En ambos escenarios de disponibilidad de nutrientes, la labranza reduce la formación de la asociación micorrízica del maíz y parece ser el factor determinante que afecta la sinergia de la micorriza con el cultivo (Ortiz-Salgado et al., 2021).

La labranza previa a la siembra de maíz redujo la disponibilidad de nutrientes en el suelo (NO_3^- , HPO_4^{2-}), que afectó la nutrición final del maíz. Por otro lado, la perturbación del suelo al incorporar los AV también disminuye la disponibilidad de nutrientes en el suelo respecto al manejo de AV sin incorporar, debido a que la incorporación de la materia orgánica promueve la mineralización de la misma y los nutrientes son inmovilizados por los microorganismos que son promovidos por la incorporación del material vegetal de la parte aérea del janamargo rica en N.

Sekaran et al. (2019) encontraron que los sistemas con labranza cero había en un aumento del carbono (C) y el nitrógeno (N) de la biomasa microbiana y lábil del suelo y además aumentaron las actividades enzimáticas de β -glucosidasa, ureasa, arilamidasa, fosfatasa ácida y alcalina y arilsulfatasa por lo que se sugiere que la labranza se debe reducir únicamente a suelos o muy compactados o pedregosos, o para acelerar el proceso de despolimerización y mineralización de la materia orgánica incorporada.

6.2.4 Manejo de la fertilización mineral

En esta investigación el manejo de la fertilización mineral se realizó con dosis medias o menores a las que se aplicaban anteriormente en el cultivo de maíz. El objetivo de este manejo de la fertilización mineral se realizó inicialmente para que no se afectará el crecimiento del maíz en

un sistema cerrado que representan las macetas, posteriormente se realizó para asegurar que el maíz en campo no tuviera deficiencias en su crecimiento y desarrollo. No obstante, este manejo de la fertilización mineral tuvo efectos positivos en varios elementos del agroecosistema y en ambos escenarios de disponibilidad de nutrientes y en diferente medida.

En agroecosistemas con baja disponibilidad de nutrientes, la fertilización mineral no sólo compensó los efectos negativos de la perturbación del suelo en la disponibilidad de nutrientes, debido a la incorporación de los AV en el suelo, si no que también aumentó la disponibilidad de los nutrientes para los microorganismos que promueven la descomposición de la materia orgánica (Jagadamma et al., 2007; Tejada et al., 2008), y finalmente para el maíz. En ese sentido cuando hubo incorporación de materia orgánica en el suelo con fertilización mineral y se incrementó la disponibilidad de nutrientes en el suelo y la producción de biomasa total en el maíz se vio promovida.

Como mencionan Ryan y Graham (2018), la fertilización mineral es el factor más importante de manejar en este agroecosistema para obtener respuestas positivas del cultivo a la micorriza. Si bien, no se logró eliminar completamente a los HMA en los tratamientos con Carbendazim, se disminuyó significativamente a niveles muy bajos y con diferencia en los patrones en la frecuencia de sus estructuras que nos pueden ayudar a formular las posibles interpretaciones sobre la respuesta de crecimiento a la micorriza, además, no se encontraron patrones de infección de las raíces con otros hongos en ningún tratamiento con Carbendazim. Por otro lado, la alta abundancia de HMA nativos en el suelo compensa la falta de inoculación en los tratamientos sin fungicida. Bajo esos términos, en esta investigación, tanto en suelos con baja disponibilidad de nutrientes como en suelos con alta disponibilidad de nutrientes, la fertilización mineral con NPK fomentó una respuesta positiva de la planta a la micorriza cuando no se aplicó Carbendazim. Por su parte, en suelos muy fertilizados, el desbalance en la respuesta del maíz a la micorriza sin

Carbendazim nos indica que probablemente haya competencia por el nitrógeno y principalmente fósforo entre los hongos del suelo, los HMA y la planta, sin embargo, la fertilización mineral moderada puede mitigar este efecto. Además, en estos suelos también se mitiga el efecto de la labranza y disturbio del suelo en la productividad del maíz y la respuesta de crecimiento del maíz a los HMA sin Cardendazim.

6.1.5 Efectos de las prácticas agrícolas (rotación de cultivos e incorporación de AV, labranza y fertilización mineral) en la interacción entre los HMA y el maíz

Uno de los resultados más inesperados es que a diferencia de otros estudios (Gavito y Miller 1998; McDaniel et al., 2014; Finn et al., 2017; de la Cruz-Ortiz et al., 2020), la rotación de cultivos no incrementó la abundancia en el suelo y la colonización de HMA para el cultivo principal, pero si aumentó la abundancia en el suelo de HMA después de cosechar el maíz. A pesar de que el janamargo es un cultivo micotrófico, el disturbio del suelo cuando se incorporó el AV afectó al micelio externo de los HMA y no aumentó significativamente su abundancia en el suelo. Se han encontrado resultados similares en los que la colonización de HMA disminuye con la labranza, lo que redujo sus atributos funcionales (de la Cruz-Ortiz et al., 2020) lo cual puede ser debido a la perturbación del suelo, a diferencia de los sistemas con labranza reducida dónde la red de micelio extra-radical puede permanecer relativamente intacta por más tiempo (Kabir, 2005). Por tanto, en suelos con baja disponibilidad de nutrientes, energéticamente le es más costoso al maíz establecer la micorriza y los HMA representan una carga energética para la planta, no obstante, la incorporación de materia orgánica con abonos verdes puede favorecer a una respuesta de crecimiento positiva del maíz a micorrizas arbusculares sin Carbendazim.

En contraste, en suelos con mucha disponibilidad de nutrientes, la incorporación de materia orgánica provoca inicialmente una inmovilización de nutrientes por la reproducción de los microorganismos que la descomponen y aumenta la competencia por N entre la microbiota edáfica, los HMA y el maíz (Püschel et al., 2016; Thirkell et al., 2016). Posiblemente sea la razón por la

que los HMA en este escenario hayan producido tantas vesículas y arbusculos, las cuales están llenas de reservas de P para el HMA (Smith y Read, 2008), y su abundancia se correlacionó con una respuesta negativa del maíz en el contenido de P, lo que nos sugiere una fuerte competencia por el P entre la microbiota que descompone los AV, los HMA y la planta (Daft y Hogarth, 1983). Adicionalmente, se ha encontrado que la diversidad de HMA y rasgos funcionales de los HMA aumentan en suelo con limitación de P, sin embargo se observa una tendencia inversa en suelo ricos en disponibilidad P (Egerton-Warburton et al., 2007; Cheng et al., 2013). Esto nos sugiere que en suelos con mucha disponibilidad y competencia por el N y P, una fertilización moderada es un factor determinante que puede favorecer a la respuesta de crecimiento del maíz a las micorrizas arbusculares, ya que se ha encontrado que los fertilizantes inorgánicos provocan una reducción del mutualismo en la simbiosis planta-AMF; que se puede reestablecer con la incorporación de materia orgánica y una fertilización equilibrada (Ma et al., 2018). Por lo tanto, posiblemente sea necesario descansar el suelo para que la microbiota encargada de la descomposición de la materia orgánica disminuya el exceso de nutrientes que afecta la sinergia entre los HMA y la planta.

En ambos casos de disponibilidad de nutrientes, los resultados de esta investigación contrastan con los paradigmas que sostienen que los HMA siempre van a representar un beneficio para la planta hospedera (Smith y Smith, 2011; Verbruggen et al., 2012; Ryan y Graham, 2018). Otros estudios que también han mostrado evidencias de que el establecimiento temprano de la micorriza en el maíz puede representar una inversión de C para la planta sin obtener beneficios en la nutrición vegetal (Ryan y Angus, 2003; Verbruggen et al., 2010). En ese sentido, Verbruggen y Kiers (2010) encontraron que con la aplicación crónica de fertilizantes se provocan cambios en las propiedades del suelo que influyen en las comunidades microbianas y cambian dirección de la simbiosis planta-HMA que comprende un amplio espectro de respuestas de crecimiento de las plantas, con efectos positivos (mutualismo), neutrales (comensalismo) o negativos (parasitismo) (Johnson et al., 1997; Klironomos, 2003; Friede et al. al., 2016). Por tanto, es necesario replantear

estudios de campo para poder determinar la importancia de las interacciones entre HMA y el maíz para evaluar las prácticas de manejo que promueven una sinergia positiva en la interacción.

6.1.6 Perspectivas e implementación del uso de los AV como una práctica generalizada

Los efectos positivos de la diversificación de cultivos en los agrosistemas tienen como resultado dos procesos principales: la complementariedad y la facilitación. Esta diversidad de plantas en el agrosistema crea nuevos hábitats para las especies asociadas y más particularmente a través de su impacto sobre la composición de la microbiota del suelo. Rotación de cultivos con maíz/leguminosas puede aumentar el reciclaje de nutrientes (N y P) que ocurre como consecuencia de procesos mediados por microorganismos que involucran hongos y bacterias del suelo.

Todas estas interacciones constituyen un continuo de la raíz-micorriza-rizobia llamada micorrizosfera y la retroalimentación positiva en la micorrizosfera implica cambios en la abundancia y diversidad de mutualistas simbióticos, como bacterias fijadoras de nitrógeno y HMA. La captación e intercambio de nutrientes en la interfaz suelo-hongo-bacterias, son mediadas por la expresión diferenciada y/o la regulación concertada de un gran número de sistemas especializados de transporte de membrana del hongo y los socios de la planta. Es imperante manejar integralmente la micorrizosfera tanto los HMA, como de las bacterias asociadas a la raíz y su ambiente abiótico para mejorar la adquisición de nutrientes en los cultivos, especialmente el P y N.

Una de las situaciones que frenan la adopción de estas prácticas es la posible menor productividad del cultivo durante los primeros años, sin embargo, esta compensación varía dependiendo del clima, del cultivo en cuestión y del AV utilizado. Por ejemplo, diversos estudios han mostrado que el efecto acumulativo de los AV después de 4 años, compensa completamente el suministro de N proporcionado por la fertilización mineral (Schomberg *et al.*, 2006). Se han identificado diversos factores que influyen como las principales limitaciones de los agricultores

para adoptar este tipo de manejo, tales como, la pequeña ventana de tiempo que deja el cultivo principal para el crecimiento del AV, los costos adicionales de mano de obra, combustibles y semillas (CTIC, 2010). Otra compensación a considerar cuando se usan AV (principalmente leguminosas), es la disminución de GEI a la atmósfera asociados a la producción de fertilizantes sintéticos (Jensen *et al.*, 2011). Esta disminución en la emisión de GEI, no sólo está relacionada con la producción de fertilizantes, sino también con la producción de herbicidas y pesticidas que son usados en exceso en los sistemas de producción convencionales. Si bien, la mayoría de las investigaciones le dan el mismo peso a los SE que compensan la posible menor productividad, diversos procesos participativos de los agricultores podrían ser útiles para ponderar los diferentes servicios. Lo más importante a considerar, es que estos compromisos entre los beneficios ambientales y las medidas económicas en la productividad son a corto plazo, y debido al aumento de los costos de los productos derivados del petróleo, estos compromisos irán disminuyendo conforme aumenten los precios de los fertilizantes, herbicidas y plaguicidas, por lo que sus beneficios económicos se pueden acentuar con la implementación de programas de distribución de costos o con incentivos. Por ejemplo, en algunos países de la unión europea y en E.U.A., se han promovido incentivos económicos para la implementación de estas prácticas, pero están enfocadas en sólo dos SE, el control de la erosión y la retención de nutrientes (MACS, 2009).

Los resultados obtenidos sostienen la pauta para fomentar un manejo del agroecosistema enfocado a los HMA para evitar que el cultivo tenga una respuesta de crecimiento negativa (MGR) (Graham y Abbott, 2000, Ryan y Graham, 2018; Verbruggen *et al.*, 2012). Por lo tanto, es necesario llevar a cabo políticas públicas que promuevan prácticas agrícolas (la rotación de cultivo con AV) que fomenten la sinergia entre los HMA y el cultivo principal, con el propósito de mitigar o eliminar una respuesta crecimiento negativa provocada los HMA. Con este tipo de manejo agrícola a largo plazo, muchos de los SE proporcionados pueden mejorar la resiliencia de los agrosistemas con retroalimentaciones positivas que tengan como consecuencia una mayor estabilidad, una reducción de insumos externos y una rentabilidad económica (Schipanski *et al.*, 2014).

6.2 Conclusiones

La incorporación de materia orgánica en el suelo con abonos verdes leguminosos con estequiometría de baja relación C/N y L/N, y con una gran capacidad de asociación con BFN, tienen diversos efectos favorables en los SE de los agroecosistemas, ya que aumentan la respiración microbiana y actividad de la microbiota edáfica que mantiene la estabilidad de muchos procesos biogeoquímicos en los agroecosistemas fomentando el reciclaje de nutrientes en el suelo.

En este estudio, la materia orgánica de la parte aérea del janamargo se descompuso rápidamente, sin embargo, en el primer ciclo agrícola los nutrientes que fueron liberados se inmovilizaron en la microbiota edáfica involucrada en el proceso de descomposición de la materia orgánica. El janamargo como abono verde puede contribuir sobradamente con N y P orgánicos para que posteriormente pueda desarrollarse el cultivo de maíz, pero el disturbio del suelo como la labranza alteró la dinámica de nutrientes en el suelo que afectó su adquisición por la planta. Los resultados en la disponibilidad de nutrientes en el suelo nos dan indicios de que el efecto de los abonos verdes podría ser acumulativo para el siguiente ciclo agrícola, por lo que es importante investigar sus efectos a largo plazo. Por otro lado, las formas de aplicación de los AV (incorporados y no incorporados) parecieron no tener efectos diferenciales en el almacenamiento de biomasa y nutrientes en la mazorca y con una fertilización mineral moderada, se mitigaron los efectos de la labranza y se favoreció la respuesta de crecimiento del maíz a los HMA sin Carbendazim.

En este estudio, en suelos con baja disponibilidad de nutrientes, la producción de biomasa total en el maíz se vio promovida cuando hubo fertilización mineral. Así mismo, la rotación de cultivos con la incorporación de AV pudo promover el crecimiento del maíz. En estos casos, los HMA representaron una carga energética para la planta, no obstante, la incorporación de materia orgánica con abonos verdes favoreció una respuesta de crecimiento positiva del maíz provocada

por las poblaciones de micorrizas arbusculares cuando no se aplicó Carbendazim. En suelos con alta disponibilidad de nutrientes hubo una marcada inmovilización de los mismos en la microbiota edáfica y también hubo una respuesta negativa de crecimiento del maíz a las micorrizas arbusculares, correlacionada con una alta producción de vesículas y arbusculos por los HMA, lo que sugiere una fuerte competencia por el N y P entre los hongos del suelo y la planta, sin embargo, la fertilización mineral moderada pudo mitigar este efecto.

6.3 Referencias

- Arruda B., Bejarano-Herrera W., Rojas-García J., Turner C. y Pavinato P. 2021. Cover crop species and mycorrhizal colonization on soil phosphorus dynamics. *Rhizosphere* **19**:100396.
- Campos F., Borie. Cornejo P. López-Ráez J, López-García A. y Seguel A. 2018. Phosphorus Acquisition Efficiency Related to Root Traits: Is Mycorrhizal Symbiosis a Key Factor to Wheat and Barley Cropping? *Frontiers in Plant Science*, **9**:1–21.
- Castro L. y Whalen J. 2016. Ion exchange membranes are sensitive indicators of ammonium and nitrate released from green manures with low C/N ratios. *European Journal of Soil Biology*, **77**:4–8.
- Chaves B., De Neve S., Hofman G., Doeckx P. y Van Cleemput O. 2004. Nitrogen mineralization of vegetable root residues and green manures as related to their (bio)chemical composition. *European Journal of Agronomy*, **21**:161–170.
- Chen X. y Zhao B. 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi mediated uptake of nutrient elements by Chinese milk vetch (*Astragalus sinicus* L.) grown in lanthanum spiked soil. *Biology and Fertility of Soils* **45**:675–678.
- Cheng Y., Ishimoto K., Kuriyama Y., Osaki M. y Ezawa T. 2013. Ninety-year-, but not single,

- application of phosphorus fertilizer has a major impact on arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Plant Soil* **365**:397–407
- CTIC, 2010. *Cropping Decisions Survey*. Conservation Technology Information Center, West Lafayette, IN.
- Cui J., Yu C., Qiao N., Xu X., Tian Y y Ouyang Ha. 2017. Plant preference for NH_4^+ versus NO_3^- at different growth stages in analpine agroecosystem. *Field Crops Research*, **201**:192–199.
- de la Cruz-Ortiz A., Álvarez-Lopezello J., Robles C. y Hernández-Cuevas L. 2020. Tillage intensity reduces the arbuscular mycorrhizal fungi attributes associated with *Solanum lycopersicum*, in the Tehuantepec Isthmus (Oaxaca), Mexico. *Applied Soil Ecology* **149**:103519.
- Daft M. y Hogarth B. 1983. Competitive interactions amongst four species of *Glomus* on maize and onion. *Transactions of the British Mycological Society*, **80**:339–345.
- Di Martino C., Palumbo G., Vitullo D., Di Santo P. y Fuggi A. 2018. Regulation of mycorrhiza development in durum wheat by P fertilization: Effect on plant nitrogen metabolism. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, **181**:429–440.
- Dong N., Hu G., Zhang Y., Qi J., Chen Y. y Hao Y. 2021. Effects of green-manure and tillage management on soil microbial community composition, nutrients and tree growth in a walnut orchard. *Scientific Reports*, **11**:16882.
- Egerton-Warburton L., Johnson N. y Allen E. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol Monogr* **77**:527–544
- Finn D., Kopittke, P. M., Dennis, P. G., y Dalal, R. C. 2017. Microbial energy and matter transformation in agricultural soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **111**:176–192.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2003. *Maize: Post-Harvest Operation*.

Food and Agriculture Organization of United Nations. Roma, Italia.

Friede M., Unger S., Hellmann C. y Beyschlag W. 2016. Conditions promoting mycorrhizal parasitism are of minor importance for competitive interactions in two differentially mycotrophic species. *Frontiers of Plant Science* **7**, 1465.

Frostegard, A., Tunlid, A., Baath, E., 1991. Microbial biomass measured as total

Gabriel J. L., y Quemada, M. 2011. Replacing bare fallow with cover crops in a maize cropping system: yield, N uptake and fertiliser fate. *European journal of agronomy*, **34**(3):133-143.

García-Garijo A., Tejera N., Lluch C., Palma F. 2014. Metabolic responses in root nodules of *Phaseolus vulgaris* and *Vicia sativa* exposed to the imazamox herbicide. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **111**:19–23.

Gavito M. y Miller, M. 1998. Changes in mycorrhiza development in maize induced by crop management practices. *Plant and soil*, **198**(2):185–192.

Graham J. y Abbott L. 2000. Wheat responses to aggressive and nonaggressive arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, **220**:207–218.

Hallama M., Pekrun C. y Lambers H. 2019. Hidden miners – the roles of cover crops and soil microorganisms in phosphorus cycling through agroecosystems. *Plant Soil*, **434**:7–45.

Jagadamma S., Lal R., Hoefl R., Nafziger E. y Adee, E. 2007. Nitrogen fertilization and cropping systems effects on soil organic carbon and total nitrogen pools under chisel-plow tillage in Illinois. *Soil Tillage Res.* **95**:348–356.

Jani, A. D., Grossman, J., Smyth, T. J., y Hu, S. 2016. Winter legume cover-crop root decomposition and N release dynamics under disking and roller-crimping termination approaches. *Renewable Agriculture and Food Systems*, **31**:214-229.

Jensen E., Peoples M., Boddey R., Gresshoff P., Hauggaard-Nielsen H., Alves B. y Morrison M.J.,

2011. Legumes for mitigation of climate change and the provision of feedstock for biofuels and biorefineries. *A review. Agronomy for Sustainable Development*, **32**:329–364.
- Johnson N., Graham J. y Smith, F. 1997. Functioning of mycorrhizal associations along the mutualism-parasitism continuum. *New Phytologist* **135**, 575–585.
- Kabir Z., 2005. *Tillage or no-tillage: impact on mycorrhizae*. En: Canadian Journal of Plant Science. Agricultural Institute of Canada, pp. 23–29.
- Karasawa T y Takahashi S. 2015. Introduction of various cover crop species to improve soil biological P parameters and P uptake of the following crops. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **103**:15–28.
- Klironomos J. 2003. Variation in plant response to native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecology* **84**, 2292–2301.
- Larsen J., Jaramillo-López P., Nájera-Rincon M. y González-Esquivel C. 2015. Biotic interactions in the rhizosphere in relation to plant and soil nutrient dynamics. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, **15**(2):449-463.
- Ma M., Ongena M., Wang Q., Guan D., Cao F., Jiang X. y Li J. 2018. Chronic fertilization of 37 years alters the phylogenetic structure of soil arbuscular mycorrhizal fungi in Chinese Mollisols. *AMB Expr.* **8**:57.
- MACS. 2009. *Maryland Agricultural Water Quality Cost-Share Program Annual Report*. Maryland Dept of Ag, Office of Resource Conservation, Annapolis, MD.
- McDaniel M. Tiemann L. y Grandy A. 2014. Does agricultural crop diversity enhance soil microbial biomass and organic matter dynamics? A meta-analysis. *Ecological Applications*, **24**:560–570.
- Ortiz-Salgado D., García-Oliva F., Alarcón A., Larsen J. 2021. Soil physical disturbance reduces

maize growth, nutrition, and mycorrhiza formation in a green manure rotation with vetch. *Rhizosphere*, **19**:100423.

Pandey A., Li F., Askegaard M. y Olesen J. 2017. Biological nitrogen fixation in three long-term organic and conventional arable crop rotation experiments in Denmark. *European Journal of Agronomy*, **90**:87–95.

Piotrowska A. y Wilczewski E. 2012. Effects of catch crops cultivated for green manure and mineral nitrogen fertilization on soil enzyme activities and chemical properties. *Geoderma*, **189–190**:72–80.

Puget P. y Drinkwater L. 2001. Short-term dynamics of root-and shoot-derived carbon from a leguminous green manure. *Soil Science Society of America Journal*, **65**:771–779.

Quemada M. y Cabrera M. 1995. Carbon and nitrogen mineralized from leaves and stems of four cover crops. *Soil Science Society of America Journal*, **59**:471–477.

Radicetti, E., Campiglia, E., Marucci, A., y Mancinelli, R. 2017. How winter cover crops and tillage intensities affect nitrogen availability in eggplant. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, **108**:177–194.

Püschel D, Janousková M, Hujšlová M, Slavíková R, Gryndlerová H, Jansa J. 2016. Plant–fungus competition for nitrogen erases mycorrhizal growth benefits of *Andropogon gerardii* under limited nitrogen supply. *Ecology and Evolution*, **6**:4332–4346.

Ryan M. y Angus J. 2003. Arbuscular mycorrhizae in wheat and field pea crops on a low P soil: increased Zn-uptake but no increase in P-uptake or yield. *Plant and Soil*, **250**:225–239.

Ryan M. y Graham J. 2018. Little evidence that farmers should consider abundance or diversity of arbuscular mycorrhizal fungi when managing crops. *New Phytologist*, **220**:1092–1107.

Schipanski M., Barbercheck M., Douglas M., Finney D., Haider K., Kaye J., Kemanian A.,

- Mortensen D., Ryan M., Tooker J. y White C. 2014. A framework for evaluating ecosystem services provided by cover crops in agroecosystems. *Agricultural Systems*, **125**:12–22.
- Schomberg H. y Endale, D. 2004. Cover crop effects on nitrogen mineralization and availability in conservation tillage cotton. *Biology and fertility of soils*, **40**:398–405.
- Schomberg H., Endale D., Calegari A., Peixoto R., Miyazawa M. y Cabrera M. 2006. Influence of cover crops on potential nitrogen availability to succeeding crops in a Southern Piedmont soil. *Biology and Fertility of Soils*, **42**:299–307.
- Sekaran U., Sagar L. De Oliveira L., Singh J. Singh N., Abagandura G., Kumar S., Singh-Farmaha B., Bly A., y Posselt A. 2019. Responses of soil biochemical properties and microbial community structure to short and long-term no-till systems. *Eur J Soil Sci.* **71**:1018–1033.
- Smith S. E. y Read D. J. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*. Elsevier. Oxford, Reino Unido.
- Smith S. y Smith F. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology*, **62**:227–250.
- Tejada M., González J., García-Martínez A y Parrado J. 2008. Effects of different green manures on soil biological properties and maize yield. *Bioresource Technology*, **99**:1758–1767.
- Thirkell T., Cameron D. y Hodge A. 2016. Resolving the ‘nitrogen paradox’ of arbuscular mycorrhizas: fertilization with organic matter brings considerable benefits for plant nutrition and growth. *Plant, Cell & Environment*, **39**:1683–1690.
- Verbruggen E, Rölíng W., Gamper H., Kowalchuk G., Verhoef H. y van der Heijden M. 2010. Positive effects of organic farming on below-ground mutualists: largescale comparison of mycorrhizal fungal communities in agricultural soils. *New Phytologist*, **186**:968–979.
- Verbruggen E., Kiers E., Bakelaar P., Rölíng W. y van der Heijden M. 2012. Provision of contrasting ecosystem services by soil communities from different agricultural fields. *Plant*

and Soil, **350**:43–55.

White C. 2016. *Using cover crop mixtures to reduce nitrate leaching and supply nitrogen to corn: Models to inform adaptive management*. Tesis de Doctorado. The Pennsylvania State University. Department of Ecosystem Science and Management. E.U.A.

White C., Bradley B., Finney D. y Kaye J. 2019. Predicting Cover Crop Nitrogen Content with a Handheld Normalized Difference Vegetation Index Meter. *Agricultural & Environmental Letters*, 4:190031.
