

Informe final publicable de proyecto

DIVERSIDAD VEGETAL EN PASTURAS NATURALES: EL ROL DE LA FACILITACIÓN DE LA ADQUISICIÓN DE NUTRIENTES EN LA DETERMINACIÓN DE LA ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES VEGETALES

Código de proyecto ANII: FCE_1_2017_1_136565

31/01/2022

DEL PINO MACHADO, Amabelia Silvia (Responsable Técnico - Científico)

INCHAUSTI FIRPI, Pablo (Investigador)

LAMBERS, Johannes Thieo (Investigador)

MOYNA BORTHAGARAY, Guillermo (Investigador)

SPERANZA GASTALDI, Pablo Rafael (Investigador)

TESTE, Francois Phillipe (Investigador)

UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. FACULTAD DE AGRONOMÍA (Institución Proponente) \\
INSTITUTO DE MATEMÁTICA APLICADA DE SAN LUIS - CONICET - UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN LUIS \\
UNIVERSITY OF WESTERN AUSTRALIA \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIONAL ESTE \\
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA. CENTRO UNIVERSITARIO REGIÓN LITORAL NORTE

Resumen del proyecto

El proyecto estudió los mecanismos de coexistencia entre especies vegetales de comunidades herbáceas de campo natural y su relación con la variación en los niveles de stress nutricional, con énfasis en la disponibilidad de fósforo. En dos comunidades: una donde fósforo es aparentemente no limitante y otra donde es claramente limitante. En el primer experimento se determinó la coexistencia radical entre las distintas especies que interactúan en la parte aérea. Utilizando metodologías de biología molecular se identificaron qué especies coexisten a nivel radical en los distintos perfiles de suelo y cuales ubican sus raíces en distintos nichos de suelo. En base a la generación de la biblioteca de secuencias de las dos regiones matK y trnL para todas las especies colectadas en las dos comunidades se identificaron en el muestreo de raíces 22 especies en un sitio y 15 especies en el otro en los primeros 20 cm de suelo, totalizando 27 especies distintas. Posteriormente, para las dos comunidades, se identificaron aquellas especies que cuyas raíces coexisten en el suelo y se cultivaron en invernáculo, sin restricciones y con bajo nivel de fósforo. Después de 2 meses se les asignó una estrategia de nutrición fosfatada en función de su nivel de manganeso en hoja, grado de micorrización y la producción de enzimas fosfatasa por las raíces. Se identificó una amplia variación en la magnitud de las cuatro características de adquisición de fósforo en cada comunidad. Por lo tanto se concluye que las estrategias de adquisición de fósforo coexisten en una misma comunidad vegetal, independiente del nivel de fósforo del suelo. No obstante, de acuerdo con el agrupamiento originado por el análisis de cluster se distinguen dos grupos de estrategias excluyentes: Especies con actividad fosfatasa y, o elevada concentración de manganeso en hoja, y especies con elevada colonización micorrítica.

Ciencias Naturales y Exactas / Ciencias Biológicas / Otros Tópicos Biológicos / Ecofisiología Vegetal

Palabras clave: Diversidad vegetal / Facilitación / fósforo /

Introducción

Antecedentes

Entender los mecanismos que determinan la estabilidad y el mantenimiento de la diversidad en comunidades vegetales ha sido uno de los antiguos objetivos de la ecología. La competencia entre especies por un mismo nicho constituía el principal mecanismo que determinaba cuales especies estuvieran presente en una comunidad y por lo tanto el grado de diversidad de la misma (Grime 1973). Para que se logre una coexistencia estable entre las especies en una comunidad, se requiere que las especies difieran en sus interacciones con el ambiente (Lotka 1932, Gause 1934, Chesson 2000). Esto se logra dado que las interacciones entre individuos conoespecíficos son mas negativas que entre individuos de diferentes especies (Chesson 2000), La facilitación es una interacción positiva entre plantas de una misma especie, o especies distintas, y resulta en el incremento de la performance de al menos una de las especies interactuantes (Callaway 1995). Recientes aportes muestran que los mecanismos facilitativos pueden contribuir al mantenimiento de patrones de biodiversidad a nivel global (McIntire and Fajardo 2014) y ayudar a entender las relaciones entre funciones ecosistémicas y biodiversidad (Wright et al. 2017). Aunque los mecanismos facilitativos sean aparentemente comunes en los ecosistemas, se desconoce aún si son tan importantes en estructurar las comunidades vegetales como lo es la competencia (McIntire and Fajardo 2014; Peay 2016; Stachowicz 2001) y por lo tanto se requieren abordajes empíricos para probar tal hipótesis.

Investigaciones recientes, en Australia, enfatizan en la relación entre las características edáficas y diversidad vegetal (Zemunik et al., 2015, 2016), observando que los niveles de fósforo determinan el tipo de estrategia funcional en la adquisición de nutrientes predominante en una comunidad. En ambientes donde el fósforo disponible es bajo predominan las especies vegetales cuya estrategia de absorción de fósforo se basa en la asociación micorrítica entre plantas y hongos micorríticos arbusculares (Gerke 2015). Sin embargo, en ambientes moderadamente pobres o muy pobres en contenido de fósforo de suelo esta asociación micorrítica tiene menor eficiencia y predominan especies vegetales con estrategias basadas en la solubilización de fósforo (Lambers et al. 2008; Hayes et al. 2014). Esta estrategia consiste en la exudación de altas concentraciones de ácidos orgánicos por raíces vegetales especializadas. Estos ácidos movilizan fósforo orgánico e inorgánico adsorbido a óxidos e hidróxidos de hierro, aluminio y calcio, aumentando así la biodisponibilización de concentraciones de fósforo del suelo (Hinsinger 2001; Lambers et al. 2012, 2015). Esta estrategia permite a estas especies de plantas acceder a fósforo no disponible en la solución del suelo, y es de especial importancia en especies de las familias nomicorríticas como Cyperaceae, Haemodoraceae, Proteaceae y Restionaceae (Newman & Reddell 1987; Tester et al. 1987; Brundrett & Abbott 1991), así como en algunos géneros de la familia micorrítica Fabaceae (Lambers, Clements & Nelson 2013b). Especies cuya absorción de fósforo se basa en esta estrategia son comunes en el

sureste de Australia, la región de Fynbos en Sud Africa y en campos rupestres en Brasil (Brundrett 2009; Hopper 2016; Oliveira et al 2016). Además de determinar la estrategia funcional predominante en las especies presentes en una comunidad la cantidad de fósforo del suelo y el pH del suelo, está asociado al grado de diversidad de este ecosistema, tanto en riqueza de especies (Laliberté et al., 2014), como en diversidad funcional (Zemunik et al., 2015). En suelos con bajos niveles de fósforo es mayor el tamaño del pool de especies presentes, y dentro de ese pool se observa una mayor diversidad de estrategias funcionales en la adquisición de fósforo (Zemunik et al., 2015). Algunas formas de fósforo del suelo son solo accesibles por las plantas mediante reacciones con exudados de las raíces (Lambers et al. 2006). A su vez la facilitación abiótica de la adquisición de recursos (Wright et al., 2017) tales como el fósforo entre especies vegetales, podría explicar, junto con la partición en la adquisición de distintas fracciones fósforo (Turner 2008), la coexistencia de una elevada cantidad de especies. La facilitación en la adquisición de recursos entre especies vegetales ha sido un mecanismo ampliamente evidenciado para casos como la fijación biológica del nitrógeno por leguminosas beneficiando a las especies acompañantes (Hille RisLambers 2004, Spen et al., 2002, schmidtke et al., 2010). En cambio, si bien existen antecedentes de facilitación de la adquisición de fósforo entre especies movilizadoras del mismo y especies beneficiadas (Lambers et al., 2013; Li et al., 2007), no se le ha prestado a este mecanismo la importancia potencial que puede tener en el estructuración de comunidades vegetales en suelos infértiles.

Dentro de los biomas de pastizales el bioma pampa (centro oeste de Argentina, Uruguay y sur de Brasil) es único en cuanto al grado de conservación que mantienen ciertas regiones dentro de este, su antigüedad y sus niveles de biodiversidad, junto al hecho de que su nivel de productividad primaria permite sustentar ciertos rubros agropecuarios sin mayor grado de transformación antropogénica. Es activa y creciente la investigación para sustentar las demandas de conocimiento y tecnologías de los sectores productivos que hacen uso de los recursos naturales del bioma. De menor magnitud han sido los esfuerzos por comprender y valorar aspectos ecológicos y ambientales del bioma, aunque sean necesarios para conservar su biodiversidad, controlar su fragilidad y proveer de servicios ecosistémicos a la población que habita en este. En relación al área que este bioma cubre, su nivel de biodiversidad es muy elevado (Overbeck et al 2007) y la riqueza de especies en microescalas presenta valores muy elevados, con el record mundial de riqueza de especies en 1 m² en una pastura natural de Córdoba (Cantero et al., 1999). Aunque la comunidad vegetal sea dominada por pocas especies, son frecuentes los niveles de riqueza de especies del orden de los 30-50 especies/m². También el bioma pampas alberga una gran diversidad de tipos de suelos. Los suelos de Uruguay generalmente presentan bajos niveles de fósforo disponible, especialmente las regiones pastoriles (Hernandez et al. 1995) y generalmente presentan un alto potencial de retención del fósforo (Hernandez y Zamalvide 1998). En consecuencia la identificación de los mecanismos de adquisición de fósforo es de gran importancia para comprender las interacciones entre las especies de las pasturas naturales del Uruguay.

El objetivo general del proyecto es, para especies de plantas de dos comunidades vegetales contrastantes en los niveles de fósforo de suelo, determinar y cuantificar los mecanismos de coexistencia entre especies de plantas pertenecientes a distintos grupos funcionales de adquisición de nutrientes. Además se pretende determinar si la importancia relativa de los mecanismos de coexistencia, facilitación de la adquisición de nutrientes o competencia por los mismos, se ve influenciada por disponibilidad de fósforo del suelo de cada comunidad.

Objetivo 1. Describir la coexistencia vegetal aérea y radicular de especies vegetales de 2 comunidades herbáceas de campo natural ubicadas en dos suelos en niveles de fósforo total y disponible

Resultado esperado. Para las dos comunidades, identificación de aquellas especies que coexisten en un mismo nicho de suelo, de aquellas que no coexisten.

Objetivo 2. Identificar y cuantificar en condiciones controladas el tipo de especialización nutritiva involucrada en la adquisición de fósforo que presenta cada una de las especies que coexisten a nivel radicular en las 2 comunidades, por medio de la cuantificación de nivel de manganeso y otros minerales en hoja, y revisando la colonización radicular por micorrizas arbusculares, y cuantificando la exudación de enzimas fosfatasa.

Resultado esperado. Para las dos comunidades, a todas las especies que coexisten radicalmente se les asigna al menos un tipo de especialización nutritiva de adquisición de fósforo

Objetivo 3. Describir el potencial solubilizador de fósforo para aquellas especies que presentaron elevados niveles de manganeso en hojas, y no presentaron micorrizas, a través de la cuantificación de ácidos orgánicos de las raíces de las especies cultivadas en hidroponía.

Resultado esperado. Para las especies con elevados niveles de Manganeso en hoja, se obtendrá una asociación positiva entre los niveles de Manganeso en hoja y la concentración de ácidos orgánicos en los exudados radicales.

Objetivo 4. Determinar si existe facilitación o competencia entre estos grupos de especies de cada comunidad, con distintas especializaciones de adquisición de fósforo, coexistiendo en ambiente artificial, a través de la cuantificación de variables morfológicas aéreas y radiculares, y niveles de nutrientes en hoja y nivel de colonización radicular por micorrizas

arbusculares, para las dos comunidades.

Resultado esperado. Identificar y describir los mecanismos de coexistencia imperantes entre los distintos grupos de especializaciones nutritivas, y la relación entre las variaciones en niveles de fósforo de suelo y el mecanismo imperante en cada comunidad

Metodología/diseño del estudio

Para desarrollar los objetivos de este proyecto se realizaron diferentes experimentos en orden ya que de los resultados de uno dependía la selección de especies del siguiente.

Experimento 1.

Se seleccionaron dos áreas de muestreo, una sobre campos de formación geológica, Unidad de suelos Constitución, (31°07'06.8"S; 57°47'57.5" O), sobre suelos Inceptisoles Ocricos y Argisoles Dístricos Ocricos. La otra sobre campos de formación geológica Basáltica, Unidad de Suelos Itapebí-Tres Árboles, (31°14'57.32"S 57° 8'46.21"O), sobre suelos Vertisoles Háplicos, consociados con Brunosoles Éutricos Típicos.

Se muestreó el suelo en los dos sitios, el cual fue tamizado, se le extrajeron raíces, restos secos y piedras. Se generaron cuatro muestras de suelo por sitio para ser analizadas. Se realizaron análisis de contenido de carbono (Mebius, 1960), nitrógeno (Bremner and Mulvaney, 1982) P disponible por resinas (Zamuz y Castro, 1974), fósforo orgánico y fósforo total (O'Halloran, 1993). Además se le cuantificó el pH (van Lierop, 1990) y se determinó la textura.

En estas dos comunidades de campo natural (una con nivel de P bajo y otra con nivel de P medio-alto), en tres sitios por comunidad se colectó el material vegetal aéreo de todas las especies vegetales presentes, identificando las mismas. Paralelamente para cada sitio y en cada comunidad sobre una grilla de 5*5 m², cada un metro se extrajo una muestra de suelo de todo el perfil de suelo (alrededor de 1 metro de profundidad). Las mismas se dividieron en estratos y se trasladaron hasta la EEFAS donde se lavaron para extraer las raíces en fresco. El material vegetal tanto aéreo como radical, almacenado y secado con silicagel, se trasladó a laboratorio molecular para posterior análisis molecular. A la biomasa aérea de cada especie se le realizó una caracterización molecular mediante la técnica "Fluorescent fragment length polymorphism" (FFLP) propuesto por Ridgway et al., (2003). Los productos de PCR se enviaron a secuenciar a MacroGen (Korea). En las raíces se determinaron los patrones de banda y/o secuencia de las muestras y se infirieron los patrones de las especies presentes en cada muestra de acuerdo al patrón de bandas y/o secuencia obtenido con la parte aérea. Las secuencias obtenidas se visualizaron con el programa Finch TV y se ensamblaron con el programa Bioedit. Se realizaron alineamientos con el método ClustalW y se construyeron filogenias utilizando el programa MEGA 6.0. De esta manera se logró identificar, de las especies presentes en la parte aérea, cuales especies se encuentran presentes con sus raíces en las distintas profundidades de suelo, y cuanta biomasa de cada especie hay presente en cada muestra de raíz. Así se identificaron aquellas especies que coexisten en las distintas profundidades de suelo, y aquellas que desarrollan sus raíces en nichos de suelo diferentes.

Experimento 2.

Periódicamente se realizaron excursiones a las dos comunidades para colectar propágulos, en lo posible semillas y además individuos vegetativos, de las especies identificadas como coexistentes en cada sitio de cada comunidad. Para las especies a las que se le colectó semilla, a la semilla se le realizó tratamiento para levantar la dormancia, posteriormente se pusieron a germinar y se generaron plantas. Para las especies para las cuales se colectaron individuos vegetativos, a estos se los trasplantó a macetas en condiciones de invernáculo.

Se generaron 5 plantas por especie y estas fueron cultivadas en dos suelos de concentraciones de fósforo disponible contrastantes, provenientes de las dos localidades utilizados en el experimento N°1. Estas plantas fueron cultivadas en condiciones controladas, en invernáculo con riego con solución nutritiva sin fósforo, de manera de respetar los niveles de fósforo de los suelos de los dos distintos sitios. Al transcurrir 2 meses se cosechó el material vegetal aéreo para posterior análisis de concentración de manganeso en hoja y las raíces para realizar estudio de actividad de enzimas fosfatasa, y para determinación de grado de colonización por micorrizas arbusculares. Las muestras de tejido vegetal aéreo se secaron y molieron y se realizaron las determinaciones Mn. La concentración de Mn se utilizó como un proxy para seleccionar especies potencialmente solubilizadoras de fósforo (Lambers et al., 2014). En las raíces frescas se realizaron las determinaciones de actividad fosfatasa (fosfo mono estearasa y fosfo di estearasa) y colonización por micorrizas. Las variables cuantificadas (i.e. concentración de Mn en las hojas, % de biomasa radical infestado por micorrizas arbusculares, etc) se analizaron a través de modelos lineales generalizados (GLM; McCullough y Nelder, 1989; Crawley, 2007) y análisis de varianza multivariados (PERMANOVA) del software libre R versión 3.2.3 (R Core Team, 2016).

Experimento 3.

A partir de los niveles de manganeso en hoja en las diferentes especies evaluadas en el Experimento 2 se seleccionaron tres especies con nivel bajo, tres con nivel medio y tres con nivel alto de Mn foliar. Se cultivaron en hidroponia en

condiciones controladas durante dos meses para obtener extracciones de ácidos orgánicos producidos por las raíces. Una vez finalizado los dos meses se colectaron muestras frescas de raíces de cada planta. Parte de las muestras fueron secadas a 60°C para determinación de peso seco. Para las extracciones de exudados radicales entre 300 y 600 mg de peso fresco de raíces se colectaron de cada planta y mantuvieron en hielo en tubos falcon. Se agregó a cada tubo 15 mL de agua esterilizada conteniendo 200 μM de CaCl₂ para mantener la electroconductividad e integridad de las membranas celulares. Se colectaron los exudados radicales por medio de la agitación del tubo en un agitador orbital y por medio de filtrado se separaron los exudados de la biomasa radical. Las determinaciones de concentración de ácidos orgánicos aún están en proceso de análisis.

El objetivo general de este proyecto es, para especies de plantas de dos comunidades vegetales contrastantes en los niveles de fósforo de suelo, determinar y cuantificar los mecanismos de coexistencia entre especies de plantas pertenecientes a distintos grupos funcionales de adquisición de nutrientes. Además se pretende determinar si la importancia relativa de los mecanismos de coexistencia, facilitación de la adquisición de nutrientes o competencia por los mismos, se ve influenciada por disponibilidad de fósforo del suelo de cada comunidad.

Objetivo 1. Describir la coexistencia vegetal aérea y radicular de especies vegetales de 2 comunidades herbáceas de campo natural ubicadas en dos suelos en niveles de fósforo total y disponible

Resultado esperado. Para las dos comunidades, identificación de aquellas especies que coexisten en un mismo nicho de suelo, de aquellas que no coexisten.

Objetivo 2. Identificar y cuantificar en condiciones controladas el tipo de especialización nutritiva involucrada en la adquisición de fósforo que presenta cada una de las especies que coexisten a nivel radicular en las 2 comunidades, por medio de la cuantificación de nivel de manganeso y otros minerales en hoja, y revisando la colonización radicular por micorrizas arbusculares, y cuantificando la exudación de enzimas fosfatasa.

Resultado esperado. Para las dos comunidades, a todas las especies que coexisten radicalmente se les asigna al menos un tipo de especialización nutritiva de adquisición de fósforo

Objetivo 3. Describir el potencial solubilizador de fósforo para aquellas especies que presentaron elevados niveles de manganeso en hojas, y no presentaron micorrizas, a través de la cuantificación de ácidos orgánicos de las raíces de las especies cultivadas en hidroponía.

Resultado esperado. Para las especies con elevados niveles de Manganeso en hoja, se obtendrá una asociación positiva entre los niveles de Manganeso en hoja y la concentración de ácidos orgánicos en los exudados radicales.

Objetivo 4. Determinar si existe facilitación o competencia entre estos grupos de especies de cada comunidad, con distintas especializaciones de adquisición de fósforo, coexistiendo en ambiente artificial, a través de la cuantificación de variables morfológicas aéreas y radicales, y niveles de nutrientes en hoja y nivel de colonización radicular por micorrizas arbusculares, para las dos comunidades.

Resultado esperado. Identificar y describir los mecanismos de coexistencia imperantes entre los distintos grupos de especializaciones nutritivas, y la relación entre las variaciones en niveles de fósforo de suelo y el mecanismo imperante en cada comunidad

Resultados, análisis y discusión

Experimento 1. Las especies colectadas en las dos comunidades fueron: *Notoscordum bonariense*, *Notoscordum montevidense*, *Eryngium nudicaule*, *Gamochaeta filaginea*, *Soliva pterosperma*, *Chevreulia acuminata*, *Hypochoeris variegata*, *Stellaria media*, *Cerastium glomeratum*, *Kyllinga pumila*, *Kyllinga odorata*, *Eleocharis viridans*, *Carex bonariensis*, *Carex phalaroides*, *Trifolium polymorphum*, *Hypoxis decumbens*, *Hebertia lahue*, *Sisyrinchium* sp, *Juncus capillaceus*, *Scutellaria racemosa*, *Oxalis articulata*, *Oxalis hispidula*, *Plantago myosura*, *Veronica xalapensis*, *Axonopus fuscifolius*, *Mnesithea sellowana*, *Andropogon lateralis*, *Paspalum notatum*, *Eragrostis cataclasta*, *Steinchisma hians*, *Paspalum plicatulum*, *Calamagrostis montevidense*, *Dichanthium sabulorum*, *Sporobolus indicus*, *Rhynchospora megapotamica*, *Schizachyrium microstachum*, *Setaria vaginata*, *Mecardonia tenera*

Se logró extraer ADN de todas las especies aunque la calidad y concentración varió entre especies. Se amplificaron las regiones cloroplásticas trnL y matK utilizando los cebadores para ambas regiones y Taq polimerasa. Para las muestras que no amplificaron se realizaron diluciones 1/50 del ADN y se utilizaron otras polimerasas menos sensibles a inhibidores (Ranger Mix o MyFi Mix, Bioline). Para la región matK se obtuvieron 24 secuencias de las 60 especies. Esto se debe a que muchas muestras no se lograron amplificar. Con esta región se logran separar la mayoría de las especies secuenciadas, a excepción de las dos especies pertenecientes al género *Notoscordum*. Para la región trnL se obtuvieron 39 secuencias de las 40 especies. Sin embargo, con esta región no se logran separar varias de las especies secuenciadas. En base a la generación de la biblioteca de secuencias de las dos regiones matK y trnL para todas las especies colectadas en las dos comunidades (ver lista de especies) se lograron identificar en el muestreo de raíces 22 especies en el sitio 1 y 15 especies

en el sitio 2 en los primeros 20 cm de suelo, totalizando 27 especies distintas. Para estas especies se colectaron propágulos para propagarlas en macetas en el experimento 2.

Experimento 2.

Micorrización. Se encontraron diferencias sustanciales entre especies en la colonización micorrítica en raíces. La variación en colonización micorrítica entre especies para los distintos sitios, es decir la variación determinada por el efecto sitio i.e. por el nivel de fósforo resinas del sitio fue baja. La expresión de la característica mostró un efecto filogenético: Especies de la familia Cyperaceae y Apiaceae mostraron consistentemente muy baja o nula colonización. También existió amplia variación dentro de familias, particularmente para las familias dominantes Poaceae y Asteraceae, con especies con muy alta o muy baja colonización micorrítica.

Actividad de enzimas. Se encontraron diferencias sustanciales entre especies tanto para actividad fosfo-mono-esterasa (0 a mas de 100 $\mu\text{g P g}^{-1}$ raíz h⁻¹) como fosfo-di-esterasa (0 a mas de 30 $\mu\text{g P g}^{-1}$ raíz h⁻¹). El efecto "especie" contribuyó a gran parte de la variación, y también especies anidado a familia. Se encontró un fuerte efecto filogenético particularmente para especies de las familias Cyperaceae, Fabaceae y Apiaceae. La mayoría de las especies de las familias Cyperaceae y Fabaceae mostraron actividad fosfo-mono-esterasa y fosfo-di-esterasa mayor a la media del sitio y Apiaceae presentó valores particularmente bajos de ambas enzimas. Para las familias dominantes Poaceae y Asteraceae existió amplia variación dentro de las familias, en la actividad de estas enzimas. Distintas especies mostraron valores bajos y altos de actividad de ambas enzimas. Para estas características la variación para una misma especie para los distintos sitios, es decir la variación determinada por el efecto sitio i.e. por el nivel de fósforo resinas del sitio fue alta, indicando que esta característica es modulada por los niveles de fósforo disponible de los suelos.

Concentración de manganeso en hoja como proxy de exudación de ácidos orgánicos. Encontramos diferencias de magnitud entre especies en la concentración de manganeso en hoja. Especies de la familia Cyperaceae mostraron valores particularmente elevados. Dentro de las familias Asteraceae, Poaceae, Convolvulaceae and Rubiaceae, algunas especies mostraron valores tan elevados como para especies de la familia Cyperaceae, pero otras mostraron valores bajos. Especies de la familia Apiaceae presentaron consistentemente valores de concentración de manganeso en hoja bajos. Existió un fuerte efecto del sitio en los valores de concentración de Manganeso en hoja para aquellas especies que se encontraron en los dos sitios. A valores bajos de fósforo disponible en suelo, las especies mostraron elevados valores de concentración de Manganeso en hoja y visceversa.

Agrupamiento de Estrategias de Adquisición de Fósforo en las especies estudiadas.

Se realizó el diagrama de grupos de especies con sus valores promedios para las cuatro características de adquisición de fósforo, de acuerdo con cluster-dendrograma y análisis de cluster para 33 especies para las cuales fueron cuantificadas las cuatro características de adquisición de fósforo, usando el método Ward y la distancia Euclidea como medida de disimilaridad de los datos. Para las 33 especies para las cuales se determinaron todas las características de adquisición de fósforo, el análisis de cluster mostró que existen y se diferencian cuatro grupos de especies según sus valores absolutos para cada característica. Grupo 1 (13 especies): Especies con alto valor de colonización micorrítica pero bajo valor de las restantes características. Grupo 2 (8 especies): Especies con elevada actividad fosfo-mono-esterasa y bajos valores para el resto de las características. Grupo 3 (2 especies): Especies con elevados valores de actividad fosfatasa y concentración de manganeso en hoja. Grupo 4 (10 especies): Especies con moderados valores de actividad fosfatasa y concentración de manganeso en hoja, y bajos valores de colonización micorrítica.

Conclusiones y recomendaciones

Se obtuvo una librería de secuencias para las dos regiones, que permitió identificar y diferenciar correctamente, las raíces de las especies presentes a lo largo del perfil de suelo, para las dos comunidades.

Un porcentaje importante (> 80 %) de las especies que coexisten en la parte aérea, en las dos comunidades, coexisten en los primeros 20 cm de suelo, es decir presentan la mayoría de su biomasa en ese horizonte del perfil.

Se identificó una amplia variación en la magnitud de las cuatro características de adquisición de fósforo en las especies estudiadas de cada comunidad. Por lo tanto existe una gran diversidad de estrategias de adquisición de fósforo en las especies presentes, estrategias que coexisten en una misma comunidad vegetal, independiente del nivel de fósforo del suelo.

De acuerdo con el agrupamiento originado por el análisis de cluster se distinguen dos grupos de estrategias excluyentes: Especies con actividad fosfatasa y, o elevada concentración de manganeso en hoja, y especies con elevada colonización micorrítica.

Referencias bibliográficas

- Albornoz, F.E., Lambers, H., Turner, B.L., Teste, F.P. y E. Laliberté. 2016. Shifts in symbiotic associations in plants capable of forming multiple symbioses across a long-term soil chronosequence. *Ecology and Evolution* 6: 2368-2377.
- Bremner, J.M. y C.S. Mulvaney. 1982. Nitrogen-Total. p.595-624. In A.L. Page et al. (ed.) *Methods of soil analyses. Part 2. Chemical and microbiological properties. Agron. Monogr. 9*, 2nd ed. ASA and SSSA, Madison, WI.
- Brundrett, M.C. y Abbott, L.K. 1991. Roots of jarrah forest plants. I. Mycorrhizal associations of shrubs and herbaceous plants. *Australian Journal of Botany* 39: 445-457.
- Brundrett, M.C. 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant and Soil*. 320: 37-77.
- Buyer, J. S., y Sasser, M. 2012. High throughput phospholipid fatty acid analysis of soils. *Applied Soil Ecology*, 61, 127-130.
- Callaway, R., M. 1995 Positive interactions among plants. *The Botanical Review* 61:306-349. Chesson, P. 2000. Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 31:343-366.
- Crawley, M. J. 2007. Generalized linear models. *The R book*, 511-526.
- Del Pino, A. y Hernández, J., 2002. Ciclaje de Fósforo por animales bajo pastoreo en campo natural y mejoramientos con leguminosas sobre suelos de Basalto. *Agrociencia*. 6: 47-52.
- Del Pino A., Andion J. y Rodríguez Olivera T. 2015. Production improvement through phosphorus fertilization and legume introduction in grazed native pastures of Uruguay. *Journal of Agricultural Science*. 154: 347 – 358.
- Djajakirana, G., Joergensen, R. G., y Meyer, B. 1996. Ergosterol and microbial biomass relationship in soil. *Biology and Fertility of Soils*. 22: (4), 299-304.
- Fransson, A.-M., I. M. van Aarle, P. A. Olsson, y G. Tyler. 2003. *Plantago lanceolata* L. and *Rumex acetosella* L. differ in their utilisation of soil phosphorus fractions. *Plant and Soil*. 248:285-295.
- Frostegård, Å., Tunlid, A., y Bååth, E. 1991. Microbial biomass measured as total lipid phosphate in soils of different organic content. *Journal of Microbiological Methods*, 14:(3), 151-163.
- García S., Pezzani C., Rodríguez M. y del Pino A. 2016. Micorrizas en gramíneas nativas: efectos a largo plazo de la fertilización fosfatada. *Agrociencia*. 20: 7-16.
- Gause, G. F. 1934. *The Struggle for Existence*. The Williams & Wilkins company, Baltimore.
- Gerke, J. 2015. The acquisition of phosphate by higher plants: effect of carboxylate release by the roots. A critical review. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 178(3): 351-364.
- Giovannetti, M. y Mosse, B. 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New phytologist*. 84: 489-500.
- Grime, J. P. 1973. Competitive exclusion in herbaceous vegetation. *Nature*, 242, 344-347.
- Hayes, P., Turner, B. L., Lambers, H., y Laliberté, E. 2014. Foliar nutrient concentrations and resorption efficiency in plants of contrasting nutrient acquisition strategies along a 2?million?year dune chronosequence. *Journal of Ecology*, 102(2), 396-410.
- Hernández, J., Otegui, O., & Zamalvide, J. P. (1995). Formas y contenidos de fósforo en algunos suelos del Uruguay (No. 43). Universidad de la República, Facultad de Agronomía.
- Hernández, J., & Zamalvide, J. P. (1998). Procesos de retención de fósforo por los suelos evaluados a través de parámetros de suelo y planta. *Agrociencia*, 2(1), 48-63.
- Hille RisLambers, J. 2004. Mechanisms responsible for the positive diversity –productivity relationship in grasslands. *Ecology Letters*. 7: 661-668.
- Hinsinger, P. 2001. Bioavailability of soil inorganic P in the rhizosphere as affected by root-induced chemical changes: a review. *Plant and soil*, 237(2), 173-195.
- Hopper, S. D., Silveira, F. A. O., y Fiedler, P. L. 2016. Biodiversity hotspots and Ocbil theory. *Plant and Soil*. 403: 167-216.
- Isaac, R.A. y Kerber, J.D. 1971 Atomic Absorption and flame photometry: techniques and uses in soil, plant and water analysis. En: *Instrumental Methods for Analysis of Soil and Plant Tissues*. Pag 17-37. Soil. Sci. Soc. Amer. Madison, WI (EEUU).
- Krüger, M., Teste, F.P., Laliberté, E., Lambers, H., Coghlan, M., Zemunik, G., y M. Bunce. 2015. The rise and fall of arbuscular mycorrhizal fungal diversity during ecosystem retrogression. *Molecular Ecology* 24: 4912-4930.
- Kuppusamy, T., Giavalisco, P., Arvidsson, S., Sulpice, R., Stitt, M., Finnegan, P.M., Scheible, W.-R., Lambers, H. y Jost, R. 2014. Lipid biosynthesis and protein concentration respond uniquely to phosphate supply during leaf development in highly-

phosphorus-efficient harsh hakea. *Plant Physiology*. 166: 1891-1911.

Laliberté, E., Zemunik, G. y Turner, B. L. 2014. Environmental filtering explains variation in plant diversity along resource gradients. *Science* 345: 1602-1605.

Laliberté, E., Grace, J. B., Huston, M. A., Lambers, H., Teste, F. P., Turner, B. L. y D. A. Wardle. 2013. How does pedogenesis drive plant diversity? *Trends in Ecology and Evolution* 6: 331-340.

Lambers, H., Finnegan, P. M., Jost, R., Plaxton, W. C., Shane, M. W., y Stitt, M. 2015. Phosphorus nutrition in Proteaceae and beyond. *Nature Plants*, 1(8).

Lambers, H., Hayes, P. E., Laliberté, E., Oliveira, R. S., y Turner, B. L. 2015. Leaf manganese accumulation and phosphorus-acquisition efficiency. *Trends in Plant Science*, 20(2), 83-90.

Lambers, H., Clode, P., Hawkins, H.-J., Laliberté, E., Oliveira, R.S., Reddell, P., Shane, M.W., Weston, P. y Stitt, M. 2015. Metabolic adaptations of the non-mycotrophic Proteaceae to soil with a low phosphorus availability. In: Plaxton, W.C. & Lambers, H. (eds), *Phosphorus Metabolism in Plants*. Wiley-Blackwell Publishing, Chicester, pp. 289-336.

Lambers, H., Shane, M.W., Laliberté, E., Swarts, N.D., Teste, F. y Zemunik, G. 2014. Plant mineral nutrition. In: *Plant Life on the Sandplains in Southwest Australia, a Global Biodiversity Hotspot*. Lambers, H. (ed.). UWA Publishing, Crawley, pp. 101-127.

Lambers, H., Clements, J. C., y Nelson, M. N. 2013. How a phosphorus-acquisition strategy based on carboxylate exudation powers the success and agronomic potential of lupines (*Lupinus*, Fabaceae). *American Journal of Botany*. 100: (2), 263-288.

Lambers, H., Bishop, J. G., Hopper, S. D., Laliberté, E., y Zúñiga-Feest, A. 2012. Phosphorus-mobilization ecosystem engineering: the roles of cluster roots and carboxylate exudation in young P-limited ecosystems. *Annals of Botany*, mcs130

Lambers, H., Cawthray, G.R., Giavalisco, P., Kuo, J., Laliberté, E., Pearse, S.J., Scheible, W.-R., Stitt, M. Teste, F. y Turner, B.L. 2012. Proteaceae from severely phosphorus-impooverished soils extensively replace phospholipids with galactolipids and sulfolipids during leaf development to achieve a high photosynthetic phosphorus-use efficiency. *New Phytology*. 196: 1098-1108.

Lambers, H., Finnegan, P.M., Laliberté, E., Pearse, S.J., Ryan, M.H., Shane, M.W. y Veneklaas, E.J. 2011. Phosphorus nutrition of Proteaceae in severely phosphorus-impooverished soils: are there lessons to be learned for future crops? *Plant Physiology*. 156: 1058-1066.

Lambers, H., Raven, J.A., Shaver, G.R. y Smith, S.E. 2008. Plant nutrient-acquisition strategies change with soil age. *Trends in Ecology and Evolution*, 23, 95-103.

Lambers, H., M. W. Shane, M. D. Cramer, S. J. Pearse, y E. J. Veneklaas. 2006. Root structure and functioning for efficient acquisition of phosphorus: matching morphological and physiological traits. *Annals of Botany* 98:693-713.

Li, L., Li, S. M., Sun, J. H., Zhou, L. L., Bao, X. G., Zhang, H. G., y Zhang, F. S. 2007. Diversity enhances agricultural productivity via rhizosphere phosphorus facilitation on phosphorus-deficient soils. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 104: (27), 11192-11196.

Lotka, A. J. 1932. The growth of mixed populations: two species competing for a common food supply. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 22:461-469.

McCullagh, P., y Nelder, J. A. 1989. *Generalized Linear Models*, no. 37 in *Monograph on Statistics and Applied Probability*.

McIntire, E., J. B., y Fajardo, A. 2014. Facilitation as a ubiquitous driver of biodiversity. *New Phytologist* 403: 797-816.

McKane, R. B., L. C. Johnson, G. R. Shaver, K. J. Nadelhoffer, E. B. Rastetter, B. Fry, A. E. Giblin, Kielland, B. L. Kwiatkowski, J. A. Laundre, and G. Murray. 2002. Resource based niches provide a basis for plant species diversity and dominance in arctic tundra. *Nature*. 415:68-71.

Murphy, J., y Riley, J. P. 1962. A modified single solution method for determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Act.* 27:31-36.

Newman, E.I. y Reddell, P. 1987. The distribution of mycorrhizas among families of vascular plants. *New Phytologist* 106: 745-751.

Oliveira, R. S., Galvão, H. C., de Campos, M. C. R., Eller, C. B., Pearse, S. J. y Lambers, H. 2015. Mineral nutrition of campos rupestres plant species on contrasting nutrient-impooverished soil types. *New Phytologist*. 205: 1183-1194.

Overbeck, G. E., Müller, S. C., Fidelis, A., Pfadenhauer, J., Pillar, V. D., Blanco, C. C., y Forneck, E. D. 2007. Brazil's neglected biome: the South Brazilian Campos. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics*. 9: (2), 101-116.

Peay, K., G. 2016. The mutualistic niche: mycorrhizal symbiosis and community dynamics. *Annual Review in Ecology and Evolution Systematics* 47: 143-164.

Pérez-Corona, M. E., J. van der Klundert, and J. T. A. Verhoeven. 1996. Availability of organic and inorganic phosphorus compounds as phosphorus sources for *Carex* species. *New Phytologist*. 133:225-231.

Proadhan, M.A., 65, R., Hoefgen, R., Watanabe, M., Lambers, H. & Finnegan, P.M. 2016. Tight control of nitrate acquisition in a species that evolved in an extremely phosphorus-impooverished environment. *Plant Cell and Environment*. 39: 2754-2761.

- R Development Core Team. 2013. R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Richardson, A. E., P. A. Hadobas, and J. E. Hayes. 2000. Acid phosphomonoesterase and phytase activities of wheat (*Triticum aestivum* L.) roots and utilization of organic phosphorus substrates by seedlings grown in sterile culture. *Plant, Cell & Environment*. 23:397–405.
- Ridgway, K. P., Duck, J. M., y Young, J. P. W. 2003. Identification of roots from grass swards using PCR-RFLP and FFLP of the plastid trn L (UAA) intron. *BMC Ecology*, 3(1), 8.
- Ryan, M.H., Tibbett, M., Edmonds-Tibbett, T., Suriyagoda, L.D.B., Lambers, H., Cawthray, G.R. y Pang, J. 2012. Carbon trading for phosphorus gain: the balance between rhizosphere carboxylates and mycorrhizal symbiosis in plant phosphorus acquisition. *Plant Cell Environ*. 35: 2170-2180.
- Schmidtke, A. et al. 2010. Plant community diversity and composition affect individual plant performance. *Oecologia*. 164, 665– 677.
- Spehn, E.M. et al. 2002. The role of legumes as a component of biodiversity in a cross-European study of grassland biomass nitrogen. *Oikos*. 98: 205–218
- Stachowicz, J., J. 2001. Mutualism, facilitation, and the structure of ecological communities. *BioScience* 51,235-246
- Sulpice, R., Ishihara, H., Schlereth, A., Cawthray, G.R., Encke, B., Giavalisco, P., Ivakov, A., Arrivault, S., Jost, R., Krohn, N., Kuo, J., Laliberté, E., Pearse, S.J., Raven, J.A., Teste, F., Veneklaas, E.J., Stitt, M. y Lambers, H. 2014. Low levels of ribosomal RNA partly account for the very high photosynthetic phosphorus-use efficiency of Proteaceae species. *Plant Cell and Environment*. 37: 1276–1298.
- Teste, F.P., Laliberté, E., Lambers, H., Kramer, S., Auer, Y. y E. Kandeler. 2016. Mycorrhizal fungal productivity and scavenging declines in phosphorus-impooverished soils during ecosystem retrogression. *Soil Biology & Biochemistry* 92: 119-132.
- Tester, M., Smith, S.E. y Smith, F.A. 1987. The phenomenon of 'nonmycorrhizal' plants. *Canadian Journal of Botany* 65: 419–431.
- Turner, B. L. 2008. Resource partitioning for soil phosphorus: a hypothesis. *Journal of Ecology*. 96:698–702.
- Van den Boogaart, K. G., y Tolosana-Delgado, R. 2013. Analyzing compositional data with R (Vol. 122). Heidelberg: Springer.
- Veneklaas, E.J., Lambers, H., Bragg, J., Finnegan, P.M., Lovelock, C.E., Plaxton, W., Price, C., Scheible, W.-F., Shane, M.W., White, P.J. y Raven, J.R. 2012. Opportunities for improving internal P-use efficiency in crop plants. *New Phytology*. 195: 306-320.
- Vierheilig, H., Coughlan, A.P., Wyss, U. y Piche, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 5004–5007.
- Wilson, J. B., Peet, R. K., Dengler, J., y Pärtel, M. 2012. Plant species richness: the world records. *Journal of vegetation Science*, 23: (4), 796-802.
- Wright, A., J.; Wardle, D., A.; Callaway, R., y Gaxiola, A. 2017. The overlooked role of facilitation in biodiversity experiments. *Trends in Ecology and Evolution*
- Zemunik, G., Turner, B., L., Lambers, H., y Laliberté, E. 2016. Increasing plant species diversity and extreme species turnover accompany declining soil fertility along a long-term chronosequence in a biodiversity hotspot. *Journal of Ecology* 104: 792-805.
- Zemunik, G., Turner, B., L., Lambers, H., y Laliberté, E. 2015. Diversity of plant nutrient-acquisition strategies increases during long-term ecosystem development. *Nature Plants* 1: 1050.

Licenciamiento

Reconocimiento 4.0 Internacional. (CC BY)