



Hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en regiones mezcaleras del estado de Michoacán, México

Arbuscular mycorrhizal fungi associated in the rhizosphere of *Agave cupreata* in mezcal regions from Michoacán, Mexico

Jesús Rafael Trinidad-Cruz¹, Evangelina Esmeralda Quiñones-Aguilar¹, Laura Verónica Hernández-Cuevas²,
Luis López-Pérez³, Gabriel Rincón-Enríquez¹

¹Biotecnología Vegetal, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco, A.C. Camino Arenero 1227, El Bajío del Arenal, C.P. 45019. Zapopan, Jalisco, México. ²Laboratorio de Micorrizas, Centro de Investigación de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Tlaxcala. Km 10.5 Carretera San Martín Texmelucan-Tlaxcala S/N, San Felipe Ixtacuixtla, C.P. 90120. Ixtacuixtla de Mariano Matamoros, Tlaxcala, México. ³Instituto de Investigaciones Agropecuarias y Forestales, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Km 9.5 Carretera Morelia-Zinapécuaro. Tarímbaro, Michoacán, México.

Gabriel Rincón-Enríquez, e-mail: grincon@ciatej.mx

RESUMEN

Antecedentes: Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) forman asociaciones simbióticas con la mayoría de las especies vegetales, por lo cual es importante conocer la riqueza, diversidad y funcionalidad de estas especies de HMA.

Objetivo: Determinar la composición y abundancia de esporas de HMA asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en la época seca y de lluvia en regiones mezcaleras de Michoacán.

Métodos: En dos épocas se muestreó suelo rizosférico de *A. cupreata* en ocho sitios; parte de los suelos de cada sitio se usó para la propagación de HMA. Las esporas de los HMA se identificaron taxonómicamente con base en su morfología, por sitio, época de muestreo y maceta de propagación.

Resultados y conclusiones: Se encontraron 39 morfo-tipos de HMA. Las familias Glomeraceae y Acaulosporaceae registraron la mayor abundancia de morfo-tipos, 37 y 34%, respectivamente. *Acaulospora scrobiculata*, *A. spinosa* y *Glomus deserticola* se encontraron en todos los sitios de muestreo; *Rhizophagus intraradices* sólo se detectó en las macetas de propagación. El 29% de los morfo-tipos sólo se encontró en la época seca, el 16% en la época de lluvia y el 55% en ambas épocas de muestreo; en las macetas se propagaron sólo el 38% de los morfo-tipos.

PALABRAS CLAVE: Glomeromycota, riqueza biológica, variación estacional, propagación de HMA

ABSTRACT

Background: Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) form symbiotic associations with most plant species, so it is important to know the richness, diversity and functionality of these HMA species.

Objective: The aim of this study was to determine the composition and abundance of spores of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of *Agave cupreata* in the dry and rainy season in some mezcal regions from Michoacán.

Methods: In the two seasons was sampled rhizosphere soil of *A. cupreata* at eight sites; part of the soil from each site was used to prepare pots propagation of AMF. Spores of mycorrhizal fungi were taxonomically identified based on their morphology, by site, sampling season and propagation pot.

Results and conclusions: 39 morpho-types of AMF were found. In families Glomeraceae and Acaulosporaceae were recorded the greater abundance of morpho-types, 37 and 34%, respectively. *Acaulospora scrobiculata*, *A. spinosa* and *Glomus deserticola* are found in all

Recibido / Received: 06/06/2016

Aceptado / Accepted: 21/04/2017

sampling sites; *Rhizophagus intraradices* only detected in the pots propagation. 29% of the morpho-types only found in the dry season, 16% in the rainy season and 55% in both sampling periods; in pots were propagated only 38% of the morpho-types.

KEYWORDS: Glomeromycota, biological wealth, seasonal variation, propagation AMF

INTRODUCCIÓN

El *Agave cupreata* Trel. & Berger es una especie endémica de la Cuenca del Balsas, México (http://www.biodiversidad.gob.mx/usuarios/mezcales/A_cupreata.html), introducida al cultivo debido a que a partir de la fermentación del jugo de las piñas de las plantas adultas se produce una bebida alcohólica artesanal conocida como mezcal (Martínez-Palacios *et al.*, 2011). En los últimos años, los estudios se han enfocado en la conservación y diversidad genética de las plantaciones de *A. cupreata* para un manejo sustentable (Martin *et al.*, 2011; Martínez-Palacios *et al.*, 2011), sin considerar la importancia de los microorganismos asociados con su rizosfera, los que juegan un papel importante y clave para el mantenimiento y productividad de las plantas en los ecosistemas (Zak *et al.*, 2003; Tarkka *et al.*, 2008). Dentro de estos microorganismos asociados a la rizosfera se encuentran los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), Phylum Glomeromycota (Schüßler *et al.*, 2001). Los HMA forman simbiosis con alrededor del 80 % de las plantas terrestres, en esta asociación, el hongo transporta los nutrientes del suelo hacia la planta y ésta en compensación le brinda una fuente de carbono, además, los HMA forman un puente que facilita la interacción de las raíces de las plantas con otros componentes de la microbiota y la parte abiótica del suelo (Jeffries *et al.*, 2003; Smith y Read, 2008).

Los HMA influyen en la diversidad y productividad de las comunidades de plantas, ya que las especies de HMA pueden asociarse simultáneamente con especies vegetales de diferentes afinidades filogenéticas, a las que permiten coexistir en un mismo ambiente, por lo que promueven la diversidad de plantas en la comunidad (van der Heijden *et al.*, 1998, 2006) y en el caso de los agaves se ha propuesto que las especies y su distribución geográfica influyen en la conformación de sus microbiomas, parte de los cuales están integrados por HMA (Coleman-Derr *et al.*, 2016). Debido a ello, es necesario conocer la riqueza, diversidad y funcionalidad de las especies de HMA que se encuentran asociadas con plantas de interés económico, ecológico y cultural como es el caso del *A. cupreata*. Durante el estudio de la riqueza

de HMA en especies particulares de plantas, como es *A. cupreata*, es asimismo importante considerar los patrones estacionales (épocas de muestreo) (Oliveira y Oliveira, 2005; Su *et al.*, 2011; Zangaro *et al.*, 2013) y la variación espacial (los sitios de muestreo) (Stutz *et al.*, 2000; Bohrer *et al.*, 2004; Wolfe *et al.*, 2007), ya que influyen en la riqueza, diversidad, abundancia de esporas y colonización de los HMA.

El género *Agave* es micorrizable (Cui y Nobel, 1992; Carrillo-García *et al.*, 1999; Camargo-Ricalde *et al.*, 2003; Li *et al.*, 2004; Ochoa-Meza *et al.*, 2009; Carballar-Hernández *et al.*, 2013; Hernández-Morales *et al.*, 2014) y no obstante que existen 150 especies y 36 taxa infraespecíficos en México (García-Mendoza, 2007), sólo para dos de ellas hay reportes sobre la composición de especies de HMA asociadas a su rizosfera. Para *Agave angustifolia* Haw. en Sonora se encontraron 32 morfo-tipos (Ochoa-Meza *et al.*, 2009), mientras que para *A. potatorum* Zucc. en Oaxaca, Carballar-Hernández *et al.* (2013) reportaron 20 morfo-tipos y Hernández-Morales *et al.* (2014) nueve. Otra especie de agave que cuenta con registros de morfo-tipos de HMA es *A. americana* L., aunque proviene de China, donde fue introducida (Li *et al.*, 2004). En todos los casos, incluido este último, *Glomus* (*sensu lato*) y *Acaulospora* fueron dominantes. Eso pone de manifiesto el gran desconocimiento que hasta el momento existe sobre la riqueza de HMA asociados con el género *Agave*, por lo cual el objetivo de este trabajo fue determinar la composición y abundancia de esporas de hongos micorrízicos arbusculares asociados a la rizosfera de *Agave cupreata* en la época seca y de lluvia en algunas regiones mezcaleras del estado de Michoacán.

MATERIALES Y MÉTODOS

Sitios de muestreo

El muestreo se realizó en ocho sitios donde crece *A. cupreata*, en forma silvestre y cultivado, dos y seis sitios, respectivamente; todos los sitios se ubicaron en el estado de Michoacán (Tabla 1).

Tabla 1. Ubicación geográfica de sitios muestreados en tres localidades productoras de *Agave cupreata* en el estado de Michoacán

Municipio (Localidad)	Sitio	Condición de <i>A. cupreata</i>	Coordenadas geográficas	Altitud (msnm)	Clave del sitio
Madero (Etúcuaro)	Las Campesinas	Cultivado	19° 24' 20.1"N 101° 11' 57"O	1537	LC
	El Huizachal	Cultivado	19° 25' 31.4"N 101° 12' 51.4"O	1624	EH
	Rancho Carlos Rojas	Silvestre	19° 24' 20.1"N 101° 11' 57"O	1853	CR
Morelia-Madero (Tumbisca)	El Limón	Cultivado	19° 32' 21.4"N 101° 05' 41.8"O	1866	EL
	Agua Dulce	Cultivado	19° 32' 21.3"N 101° 05' 41.8"O	1890	AD
Tzitzio (Tzitzio)	Paso Ancho	Cultivado	19° 30' 1.7"N 100° 54' 51.1"O	1006	PA
	Barranca de la Nueces	Cultivado	19° 33' 55.1"N 100° 55' 39"O	1471	BN
	Cerro del Metate	Silvestre	19° 34' 22.3"N 100° 56' 27.5"O	1915	CM

Obtención de las muestras

La recolecta del suelo rizosférico se realizó durante dos épocas del año, en la temporada seca (mayo del año 2011) y de lluvia (agosto-septiembre del año 2011). De cada sitio y época de muestreo se recolectaron muestras de suelo rizosférico de plantas de *A. cupreata* seleccionadas al azar tanto en plantaciones como en poblaciones silvestres. Por cada planta se tomaron cuatro submuestras ubicadas en los cuatro puntos cardinales de la planta desde la base hasta una profundidad del suelo de entre 15 a 20 cm (Carballar-Hernández *et al.*, 2013), posteriormente las submuestras fueron mezcladas para hacer una muestra compuesta de aproximadamente 2 kg por planta. En el laboratorio, las muestras fueron colocadas en botes de plástico de 1 L de capacidad, etiquetadas y almacenadas a temperatura ambiente hasta su posterior uso. Las muestras obtenidas en la época de lluvia fueron secadas a temperatura ambiente durante dos semanas bajo sombra antes de su almacenamiento. De acuerdo con la disponibilidad de plantas, en la época seca se muestrearon cinco plantas para el sitio El Huizachal (EH), cuatro plantas para Las Campesinas (LC), tres plantas para Rancho Carlos Rojas (CR) y Paso Ancho (PA), cinco plantas para El Limón (EL), dos plantas para Barranca de las Nueces (BN) y Cerro del Metate (CM) y una

planta para Agua Dulce (AD), para un total de 25 plantas muestreadas. Para la época de lluvia se muestrearon cinco plantas para EH, seis plantas para LC, dos plantas para CR, BN, AD y CM, ocho plantas para EL y tres plantas para PA, en total se muestrearon 30 plantas.

Análisis físico-químico del suelo rizosférico

El análisis físico-químico de los suelos recolectados de la rizosfera de *A. cupreata* durante la época seca se realizó a través del Laboratorio de Análisis Agrícola de la empresa Servicios Analíticos Agroindustriales (SEANA), ubicado en la ciudad de Tarímbaro, Michoacán. Los análisis incluyeron las determinaciones de: fósforo disponible (P), nitrógeno total (N_t), potasio (K), magnesio (Mg), calcio (Ca), cloro (Cl), azufre (S), hierro (Fe), cobre (Cu), manganeso (Mn), aluminio (Al), pH (H_2O), materia orgánica (MO), conductividad eléctrica (CE) y los porcentajes de arcilla, limo y arena; las características de estos suelos son mostradas en la Tabla 2.

Identificación taxonómica

La identificación taxonómica de las esporas de HMA se realizó para cada uno de los ocho sitios muestreados en ambas épocas.

Tabla 2. Propiedades físico-químicas de los suelos rizosféricos de *Agave cupreata* muestreados durante la época seca en distintos sitios distribuidos en el estado de Michoacán

Sitio	pH	CE	MO	N _t	P	K	Mg	Ca	Cl	S	Fe	Cu	Mn	Al	Arc	Li	Are
		dS m ⁻¹	(%)	(mg kg ⁻¹)											(%)		
LC	5.6	0.050	2.8	79.2	100	125	215	300	7.5	5	15	2	18	22	41	22	37
EH	5.7	0.062	2.4	51.8	75	100	155	305	22	20	17.5	<2	25	25	44	34	22
CR	5.1	0.078	2.1	44.0	75	110	288	422	15	15	28	2	17	20	64	18	18
EL	5.2	0.093	1.8	52.0	70	75	125	225	12	15	18	<2	25	25	17	26	57
AD	5.2	0.059	2.0	62.6	60	80	144	275	5	5	10	<2	15	15	19	15	66
PA	6.9	0.063	2.1	55.8	65	100	175	250	5	5	10	<2	20	10	23	20	57
BN	7.4	0.109	1.7	49.5	65	75	115	265	5	3	18	<2	15	10	17	11	72
CM	4.8	0.024	1.3	36.8	50	75	110	250	30	25	15	2	25	35	34	5	61

CE: Conductividad eléctrica; MO: Materia orgánica; Arc: Arcilla; Li: Limo; Are: Arena

Para esto, se tomó una muestra de 100 g de suelo de cada planta de un mismo sitio y época de muestreo para obtener una muestra compuesta por sitio y época, teniendo como resultado 16 muestras compuestas de suelo rizosférico. Se tomaron 100 g de suelo seco de cada una de las muestras compuestas para extraer las esporas de HMA mediante la técnica de tamizado húmedo, decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963) y centrifugación con sacarosa al 44 % (Brundrett *et al.*, 1996), la extracción de esporas se realizó en dos fracciones de 50 g cada una, por muestra. Las esporas fueron extraídas con micropipeta con ayuda de un estereomicroscopio y se colocaron en un portaobjetos en grupos de esporas con características similares de color y tamaño. A los grupos de esporas se les agregó una gota de alcohol polivinílico en lactoglicerol (PVLG) mezclado con Reactivo de Melzer (1:1, v:v) con la finalidad de observar cambios de color en la pared. Posteriormente se cubrieron con un cubreobjetos para su observación al microscopio compuesto (Schenck y Pérez, 1990; Tapia-Goné *et al.*, 2008).

La observación de las preparaciones se realizó con un microscopio Zeiss Axioscop II-Plus con contraste de interferencia de Nomarski; con una cámara digital Olympus DPI acoplada al microscopio se capturaron imágenes de las esporas y detalles de la pared e hifas, las que se procesaron mediante el software Image Pro® Plus versión 4.5 (Media Cybernetics, 2001). La identidad de las esporas fue determinada por com-

paración y contrastación de las características morfológicas observadas contra la descrita para las especies de HMA que están disponibles en la página electrónica de la International Culture Collection of (Vesicular) Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<http://www.invam.wvu.edu/>), del Prof. Janusz Blaszowski (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota>) y de las descripciones originales de diferentes especies, obtenidas a través de enlaces en la página Arbuscular Mycorrhizal Fungi Phylogeny (http://www.arbuscular-mycorrhiza.net/amphylo_home.html) y revistas especializadas. Se sigue la clasificación propuesta por Schüßler *et al.* (2001) y Redecker *et al.* (2013). Preparaciones permanentes con las esporas de HMA se encuentran depositadas en el herbario TLXM de la Universidad Autónoma de Tlaxcala.

Con la finalidad de obtener esporas de los HMA en buenas condiciones y corroborar algunas características morfológicas que no se hubieran observado en las esporas extraídas de los suelos de campo, así como para obtener esporas de especies que no se encontraron durante los muestreos de campo y complementar el registro de especies, una parte del suelo rizosférico de *A. cupreata* de los ocho sitios y dos épocas de muestreo se colocó en macetas con sorgo [*Sorghum bicolor* (L.) Moench], alfalfa (*Medicago sativa* L.), cebolla (*Allium cepa* L.) y agave (*A. cupreata*) como plantas trampa, las que se mantuvieron en condiciones de invernadero durante ocho meses.



Tabla 3. Especies de hongos micorrizicos arbusculares asociadas a la rizosfera de *Agave cupreata*, en distintos sitios y épocas de muestreo (seca=S y lluvia=L) en el estado de Michoacán

Hongo micorrizico arbuscular	LC		EH		CR		EL		AD		PA		BN		CM	
	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L
Familia: Ambisporaceae																
1. <i>Ambispora appendicula</i> * (Spain, Sieverding & Schenck) C. Walker																X
Familia: Archaeosporaceae																
2. <i>Archaeospora schenckii</i> (Sieverding & S. Toro) C. Walker & A. Schüßler	X	X	X	X			X	X		X	X					
Familia: Acaulosporaceae																
3. <i>Acaulospora delicata</i> C. Walker, C. M. Pfeiff. & Bloss			X	X												
4. <i>Acaulospora denticulata</i> Sieverding & S. Toro	X							X					X			
5. <i>Acaulospora excavata</i> Ingleby & C. Walker									X							X
6. <i>Acaulospora laevis</i> Gerd. & Trappe						X	X	X			X					
7. <i>Acaulospora mellea</i> * Spain & N. C. Schenck											X	X				X
8. <i>Acaulospora morrowiae</i> * Schenck, Spain, Sieverd. & How.			X	X												
9. <i>Acaulospora rehunii</i> * Sieverding & S. Toro								X								X
10. <i>Acaulospora scrobiculata</i> * Trappe	X	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X		X	X
11. <i>Acaulospora spinosa</i> * C. Walker & Trappe	X			X	X		X			X	X	X	X	X	X	
12. <i>Acaulospora</i> sp. 1	X										X	X				X
13. <i>Acaulospora</i> sp. 2									X			X				
14. <i>Acaulospora</i> sp. 3															X	
15. <i>Acaulospora</i> sp. 4							X				X		X			
Familia: Claroideoglomeraceae																
16. <i>Claroideoglomerus claroideum</i> * (N. C. Schenck & G. S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler				X						X						
17. <i>Claroideoglomerus etunicatum</i> * (W. N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	X			X			X				X	X	X			
Familia: Diversisporaceae																
18. <i>Diversispora aurantia</i> (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler		X		X	X			X				X	X	X		X
Familia: Entrophosporaceae																
19. <i>Entrophospora infrequens</i> (I. R. Hall) R. N. Ames & R. W. Schneid	X	X	X	X			X									

continúa Tabla 3

Hongo micorrízico arbuscular	LC		EH		CR		EL		AD		PA		BN		CM	
	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L	S	L
Familia: Glomeraceae																
20. <i>Funneliformis geosporum</i> * (T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler								X		X						X
21. <i>Funneliformis mosseae</i> * (T. H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler	X		X		X		X				X					X
22. <i>Glomus deserticola</i> Trappe, Bloss & J. A. Menge	X	X	X	X	X	X	X	X		X	X	X	X	X	X	X
23. <i>Glomus glomerulatum</i> Sieverding		X													X	X
24. <i>Glomus microaggregatum</i> Koske, Gemma & P. D. Olexia	X					X					X					X
26. <i>Glomus</i> sp. 1													X			
27. <i>Glomus</i> sp. 2								X								
28. <i>Glomus</i> sp. 3											X					
29. <i>Rhizophagus clarus</i> T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & A. Schüßler											X					
30. <i>Rhizophagus diaphanum</i> (C. Cano & Y. Dalpé) C. Walker & A. Schüßler			X	X										X		
31. <i>Rhizophagus intraradices</i> * (N. C. Schenck & G. S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler																
32. <i>Sclerocystis rubiformis</i> Gerd. & Trappe						X										
33. <i>Sclerocystis sinuosa</i> Gerd. & B. K. Bakshi											X					
34. <i>Septoglomus viscosum</i> * (T.H. Nicolson) C. Walker	X	X	X					X			X					X
Familia: Gigasporaceae																
35. <i>Dentiscutata erythropus</i> * (Koske & C. Walker) C. Walker & D. Redecker																X
36. <i>Racocetra gregaria</i> (N. C. Schenck & T. H. Nicolson) Oehl, F. A. Souza & Sieverding								X								
37. <i>Scutellospora dipurpurens</i> J. B Morton & Koske				X												
38. <i>Scutellospora</i> sp. 1				X												
Familia: Pacisporaceae																
39. <i>Pacispora</i> sp. 1		X														

X: Presencia de la especie; *Especie propagada en maceta; *Especie encontrada exclusivamente en las macetas de propagación. Nombres de especies y familias de acuerdo con Schüßler y Walker (2010) y Redecker *et al.* (2013). Las Campesinas (LC); El Huizachal (EH); Rancho Carlos Rojas (CR); El Limón (EL); Agua Dulce (AD); Paso Ancho (PA); Barranca de la Nueces (BN); Cerro del Metate (CM).



Abundancia de esporas

Paralelo a la identificación taxonómica, se realizó el conteo de las esporas extraídas; considerando esporas viables aquellas que presentaron contenido celular y ningún daño aparente al ser observadas al microscopio óptico. Para expresar la abundancia de esporas en 100 g de suelo seco, 10 g de cada suelo de cada muestra se colocaron en un horno de convección (Binder®) a 80 °C hasta peso constante para determinar el contenido de humedad y hacer la corrección correspondiente en el número de esporas.

RESULTADOS

Los ocho sitios de muestreo mostraron tener características físico-químicas variables para la mayoría de los parámetros evaluados (Tabla 2). Resulta de particular importancia notar la baja cantidad de MO y la gran cantidad de Ca presente, que indica una preferencia de *A. cupreata* por habitar en suelos calizos. Sin embargo, no se observó relación entre las características físico-químicas y la riqueza de morfo-tipos o la abundancia de esporas de HMA encontradas en cada sitio de muestreo.

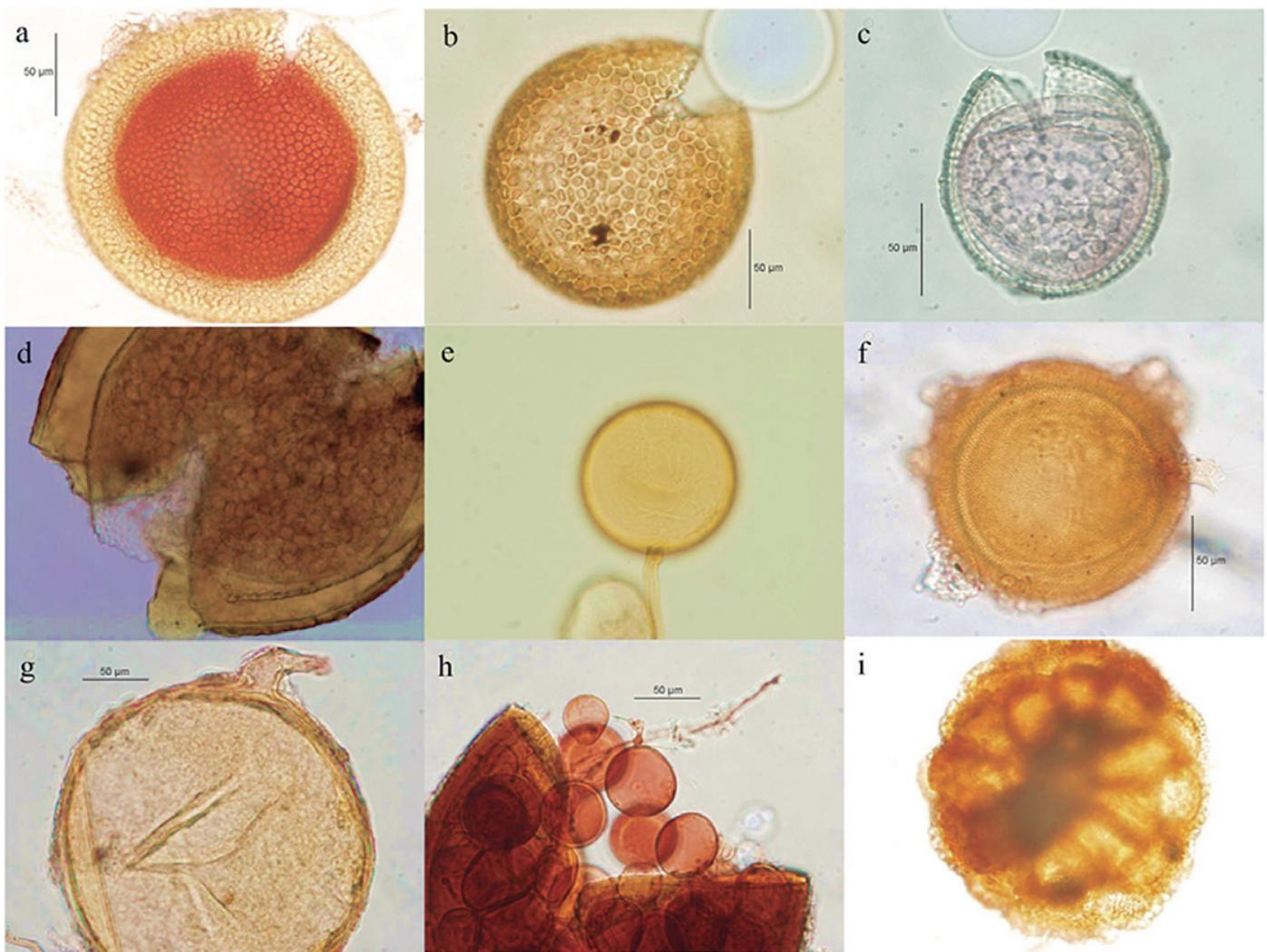


Figura 1. Especies de hongos micorrízicos arbusculares encontradas en la rizosfera de *Agave cupreata* de distintas regiones del estado de Michoacán. a. *Acaulospora denticulata*; b. *A. excavata*; c. *A. scrobiculata*; d. *Ambispora appendicula*; e. *Diversispora aurantia*; f. *Entrophospora infrequens*; g. *Funneliformis mosseae*; h. Esporas de *Glomus microaggregatum* dentro de una espora muerta de otro HMA; i. Esporocarpo de *Sclerocystis sinuosa*.

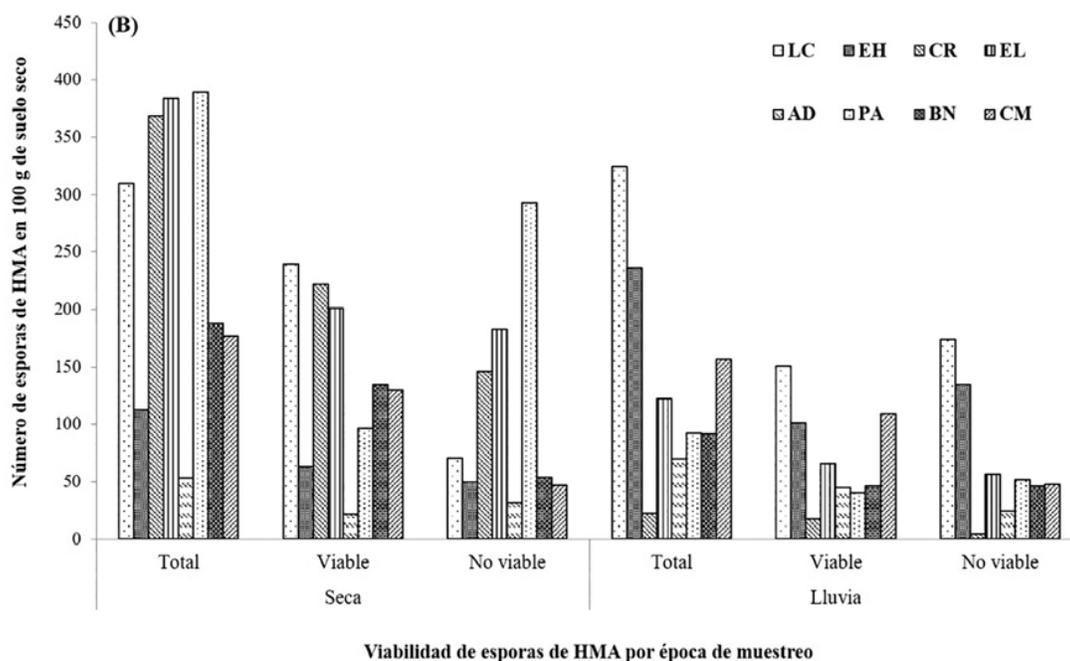
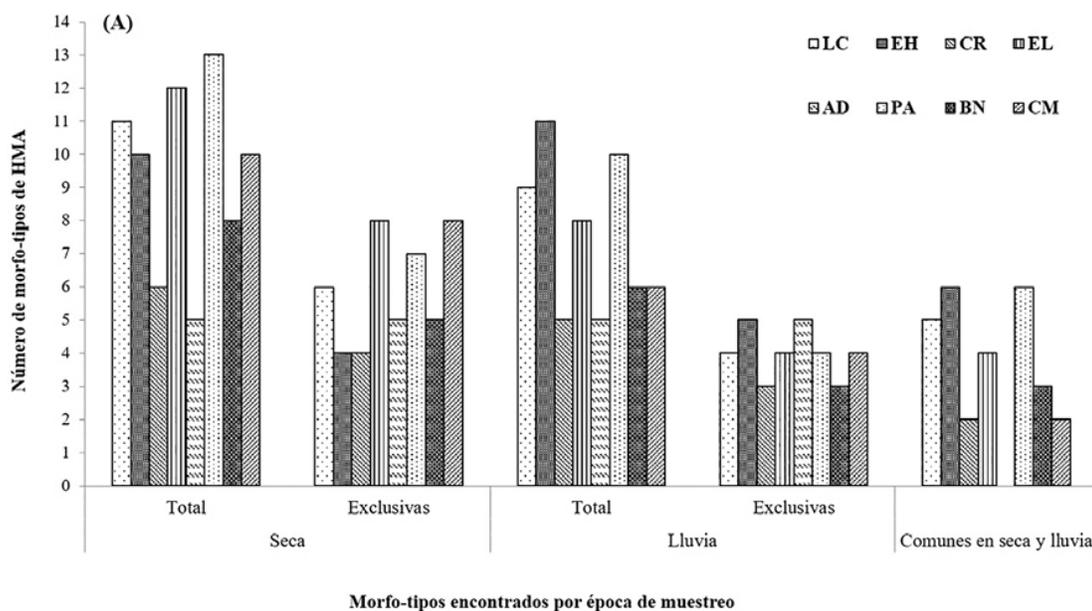


Figura 2. Número de morfo-tipos (A) y abundancia de esporas viables (B) de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en distintos sitios de muestreo durante dos épocas del año (seca y lluvia) en la rizosfera de *Agave cupreata* del estado de Michoacán. Las Campesinas (LC); El Huizachal (EH); Rancho Carlos Rojas (CR); El Limón (EL); Agua Dulce (AD); Paso Ancho (PA); Barranca de la Nueces (BN); Cerro del Metate (CM).



La riqueza de HMA encontrada en las 16 muestras compuestas de suelo rizosférico de *A. cupreata* fue de 38 morfo-tipos incluidos en nueve familias y 15 géneros para las dos épocas (seca y lluvia) (Tabla 3). En las familias Glomeraceae y Acaulosporaceae se registraron la mayor abundancia con un 37 y 34 % del total de los morfo-tipos, respectivamente, seguidas de la familia Gigasporaceae con un 10 %. Dentro de la familia Glomeraceae se registraron cinco géneros, con *Glomus* como el más abundante con el 18 % de los morfo-tipos (Tabla 3).

Acaulospora scrobiculata, *A. spinosa* y *Glomus deserticola* se encontraron en todos los sitios de muestreo (Figura 1), seguidas por *Diversispora aurantia* (siete sitios), *Funneliformis mosseae* (cinco sitios), *Archaeospora schenckii*, *Claroideoglossum etunicatum*, *Glomus microaggregatum* y *Septoglossum viscosum* (cuatro sitios) (Tabla 3). Los 29 morfo-tipos restantes fueron encontrados en menos de cuatro sitios. Se encontraron morfo-tipos de HMA que no corresponden con las características taxonómicas típicas de las especies de HMA descritas hasta la fecha, por lo cual pueden considerarse potencialmente como especies nuevas. Éstas representaron el 23 % del total y se registraron para los géneros *Acaulospora* (4 morfo-tipos), *Glomus* (3), *Scutellospora* (1) y *Pacispora* (1).

Las épocas de muestreo (seca y lluvia) afectaron la presencia de especies de HMA en la rizosfera de *Agave cupreata*, siendo variable entre sitios así como entre épocas de un mismo sitio (Figura 2 A). La riqueza de morfo-tipos encontrada en los sitios de muestreo varió entre cinco a 13 para la época seca y de cinco a 11 para la de lluvia. El 45 % de los morfo-tipos fueron encontrados solamente en una época de muestreo (seca o lluvia). El sitio de muestreo que mayor riqueza mostró en conjunto (época seca y de lluvia) fue PA con 17 morfo-tipos; el sitio con menor riqueza fue CR con sólo nueve morfo-tipos. La abundancia de esporas varió entre sitios y épocas de muestreo, en promedio la abundancia de esporas fue entre 50 a 400 esporas en 100 gramos de suelo seco en la época seca y de entre 20 a 350 esporas para la época de lluvia (Figura 2B); en ambas temporadas de muestreo, una gran cantidad de las esporas observadas fueron no viables, es decir, no presentaron contenido citoplasmático o se encontraron parasitadas o dañadas (Figura 2B). Los morfo-tipos de HMA que se presentaron con mayor frecuencia en las muestras compuestas de suelo rizosférico fueron *Glomus deserticola* y *Acaulospora scrobiculata* con un 87 %, *A. spinosa* con el 62 %, *Diversispora aurantia* y *Archaeospora schenckii* con el 50 % (Figura 3).

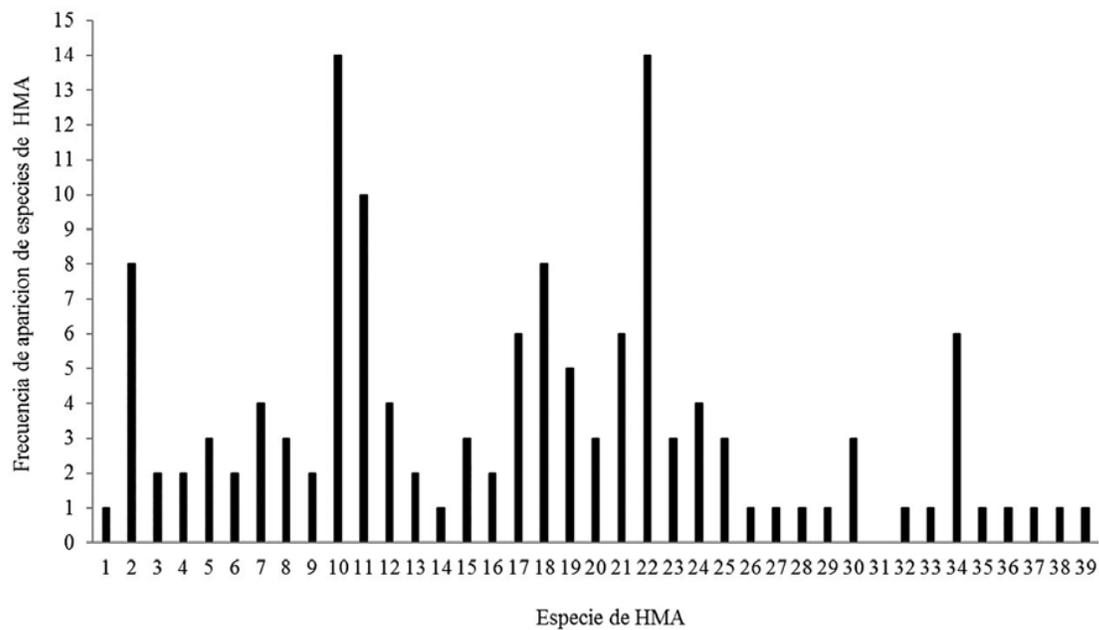


Figura 3. Riqueza de especies de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) registradas en los ocho sitios de muestreo en ambas épocas del año (seca y lluvia) en la rizosfera de *Agave cupreata* del estado de Michoacán (clave morfo-tipo de HMA ver la Tabla 3).

En las macetas de propagación, en conjunto, se obtuvieron esporas de 12 de los morfo-tipos de HMA registradas de los suelos de campo (31 %). El número de morfo-tipos obtenidos en las macetas varió entre sitios de origen, presentándose la menor cantidad (cuatro morfo-tipos) en el suelo del sitio CM y la mayor (siete) en el suelo del sitio AD; en el sitio CR no hubo propagación (Tabla 3). *Rhizophagus intraradices*, especie no registrada en los suelos de campo, solo se detectó en macetas de propagación con suelo del sitio LC. *Claroideoglossum claroideum*, *C. etunicatum* y *A. spinosa* fueron los morfo-tipos de HMA mejor propagadas, con 42.3, 147.5 y 60.4 esporas en 100 g de suelo seco, respectivamente.

DISCUSIÓN

Se registró una gran riqueza de morfo-tipos de HMA asociados a la rizosfera de *A. cupreata* en ocho sitios de muestreo y dos épocas del año en las regiones mezcaleras del estado de Michoacán exploradas en este estudio, siendo éste el primer reporte sobre riqueza de especies de HMA asociada a la rizosfera de esta especie de agave. Para México se han registrado la presencia de 104 especies de HMA (Chimal-Sánchez *et al.*, 2016), por lo que en este estudio, sin considerar los morfo-tipos potencialmente nuevos, las especies de HMA encontradas en la rizosfera de *A. cupreata* representan el 28 % de las registradas para México para el género *Agave* (Alarcón *et al.*, 2012; Chimal-Sánchez *et al.*, 2015). Con respecto a las especies de HMA que se han reportado para el estado de Michoacán, Bárcenas-Ortega *et al.* (2011) encontraron 49 morfo-tipos de HMA en huertos comerciales de aguacate var. Hass (*Persea americana* M.), 43 % de los cuales son registrados para *Agave cupreata* en este trabajo; dentro de estos morfo-tipos en común destaca *Diversispora aurantia*, especie frecuente encontrada en siete de los ocho sitios de muestreo en las regiones mezcaleras del estado de Michoacán; su presencia en el suelo rizosférico de aguacate (cultivar Hass), de chile poblano (*Capsicum annuum* L.) (Carballar-Hernández com. pers.) y ahora de *A. cupreata*, constituyen los únicos registros de esta especie para México. Por otra parte, González-Cortés *et al.* (2012) encontraron 38 especies de HMA asociadas a bosques de pino-encino, plantaciones de aguacate y campos de maíz en el estado de Michoacán; cerca del 37 % de las especies encontra-

das por dichos autores son comunes con las reportadas en este estudio.

La ausencia de especies del género *Gigaspora* en este estudio, contrasta con los datos reportados para aguacate, maíz y bosques de pino-encino en el estado de Michoacán, donde encontraron a *Gigaspora albida*, *G. decipiens*, *G. gigantea* y tres morfo-tipos de *Gigaspora* designados como sp. (Bárcenas *et al.*, 2007; Bárcenas-Ortega *et al.*, 2011; González-Cortés *et al.*, 2012; Carreón-Abud *et al.*, 2013). Resulta difícil determinar si la ausencia de especies de *Gigaspora* es debido a que estas especies ya no forman parte de las comunidades de HMA en las plantaciones de *Agave cupreata*, puesto que, los cambios en la composición de las especies de plantas y la variación estacional influyen en la riqueza y los patrones de esporulación de las especies de HMA (Pringle y Bever, 2002; Lekberg *et al.*, 2007; Oehl *et al.*, 2009), no obstante, llama la atención que para las otras especies de *Agave* que se han estudiado en México se ha reportado únicamente a una especie, *Gigaspora decipiens* para *Agave potatorum* (Carballar-Hernández *et al.*, 2013) o ninguna para *A. angustifolia* (Ochoa-Meza *et al.*, 2009). En este estudio, como se muestra en la Figura 2A, cada sitio presentó una riqueza de especies singular, en función de la época de muestreo (seca o lluvia) con especies en común y diferentes entre épocas para cada sitio. Al respecto, Su *et al.* (2011) encontraron que los muestreos en los pastizales de Mongolia durante los meses de mayo a octubre y en cinco especies de plantas influyeron en el número de esporas, la riqueza de especies y el índice de diversidad Shannon-Wiener de los HMA; además encontraron que significativamente la época de muestreo tuvo mayor influencia que el tipo de hospedero. En otros estudios se ha encontrado que los patrones estacionales influyen en diversidad y abundancia de esporas (Šmilauer, 2001; Lugo *et al.*, 2003; Camargo-Ricalde y Esperón-Rodríguez, 2005; Oliveira y Oliveira, 2005; Zangaro *et al.*, 2013). Con respecto a la distribución geográfica, Wolfe *et al.* (2007) encontraron que la riqueza de comunidades de HMA fue variable aun en pequeñas escalas de muestreo cercanas (parcelas de 2x2 m) sin encontrar una asociación significativa entre la diversidad de las comunidades de HMA y la diversidad de plantas. Coleman-Derr *et al.* (2016) encontraron una influencia fuerte de la distribución geográfica sobre la diversidad y composición de los recursos microbianos (incluidos los HMA) asociados



con *Agave deserti* Engelm., *A. salmiana* L. y *A. tequilana* Weber y señalaron a *Glomus* y *Entrophospora* como los HMA presentes, situación que concuerda con los resultados de este trabajo ya que *E. infrequens* fue una de las especies observada en tres de los sitios estudiados y el género *Glomus* tuvo el mayor número de especies y una distribución amplia (Tabla 3). No obstante a lo anterior, el hecho de que el 45 % de las especies de HMA registradas en este estudio fueron encontradas dependiendo de la época (seca o lluvia) y a que el 76 % de las especies se encontraron en menos de cuatro sitios, evidencian la importancia de muestrear el suelo en otros momentos del año (inicio y termino de lluvias y de secas) y sitios, para conocer con mayor precisión la diversidad de HMA presentes en los suelos rizosféricos de toda la zona de distribución de especies vegetales particulares, como en este caso en *Agave cupreata*; igualmente importante será abordar el estudio de la riqueza de HMA por medio de técnicas moleculares que permitan identificar a aquellos que estén presentes no sólo en los suelos, sino en las raíces de la planta (Al-Yahya'ei *et al.*, 2011).

Los morfo-tipos que podrían representar especies nuevas, deben obtenerse en cultivos monoespóricos para describir detalladamente y con precisión sus características morfológicas en diferentes fases de desarrollo, además de que es necesario procesarlos mediante técnicas de biología molecular para comparar las secuencias genéticas de regiones específicas, como el gen SSU rRNA, con las que existen en las bases de datos y realizar análisis filogenéticos que permitan relacionarlas con otras especies y definir las como especies nuevas de HMA de origen mexicano (Montaño *et al.*, 2012; Öpik *et al.*, 2013), lo cual no ha sido posible hasta el momento. La riqueza de especies de los morfo-tipos de cada sitio encontrada en las macetas de propagación después ocho meses de propagación disminuyó con respecto a la encontrada en los suelos rizosféricos de *A. cupreata* de campo a excepción de algunos morfo-tipos que solo se observaron después de la propagación (Tabla 3). La disminución de especies de HMA en macetas de propagación es un fenómeno que se ha documentado previamente para suelos rizosféricos de diferentes tipos de vegetación sometidos a dos años de propagación (Velázquez y Cabello, 2011), indicándose que bajo tales condiciones los HMA de Glomeraceae se evidencian como competidores contra hongos de otras familias. Este fenómeno fue confirmado para

un inóculo obtenido a partir de suelo rizosférico de maíz sometido a ocho ciclos de cultivo (Trejo-Aguilar *et al.*, 2013) donde predominó nuevamente Glomeraceae. Es importante señalar que en este estudio se emplearon plantas comúnmente usadas para la propagación (sorgo, alfalfa y cebolla) y plantas de la misma especie de agave de la que procedían los suelos para promover la proliferación de las especies de HMA, no obstante, se presentó un efecto de reducción de especies, el cual pudo deberse en parte a dos aspectos: 1) el cambio de hospedero y de plantas de ciclo corto actúa como un selector de especies de HMA, y 2) la edad de las plantas de agave, dado que las que se usaron como plantas trampa tenían de dos a tres hojas verdaderas después de su germinación y aunque se desarrollaron durante ocho meses, dicho tiempo no fue suficiente para promover la esporulación de más especies de HMA, las que pueden responder al estado fisiológico de la plantas de campo (estrés por nutrientes, agua o temperatura) que promueve la esporulación de más especies de HMA que las propagadas en invernadero.

Se concluye que la rizosfera de *Agave cupreata* explorada en ocho sitios de muestreo de la región mezcalera del estado de Michoacán, durante la época seca y de lluvia, presenta una riqueza alta de especies de HMA (38 morfo-tipos). El 55% de los morfo-tipos fue encontrado en ambas épocas de muestreo, un 29% de los morfo-tipos únicamente en la época seca y un 16% en la época de lluvia. Se encontraron morfo-tipos potencialmente nuevos (23%) para México. Este es el primer reporte de la riqueza de especies de HMA asociadas a la rizosfera de *A. cupreata* en el estado de Michoacán y México. Es necesario determinar cómo la riqueza de especies de HMA puede influir en el crecimiento y la productividad de las plantas de *A. cupreata* para proponer estrategias de manejo encaminadas hacia la sustentabilidad de las plantaciones de agave y la conservación de los HMA.

AGRADECIMIENTOS

J. R. Trinidad-Cruz agradece al Conacyt por el apoyo de beca para realizar sus estudios de maestría desarrollada como parte del proyecto MICH-2010-03-148208 financiado por el Fondo Mixto del gobierno del estado de Michoacán y el Conacyt (clave del proyecto MICH-2010-03-148208). La Dra. E. E. Quiñones-Aguilar participó como codirectora de tesis de maestría de J. R. Trinidad-Cruz.

LITERATURA CITADA

- Alarcón, A., L.V. Hernández-Cuevas, R. Ferrera-Cerrato, A. Franco-Ramírez, 2012. Diversity and agricultural applications of arbuscular mycorrhizal fungi in Mexico. *Journal of Biofertilizers and Biopesticides* 3: 115-124.
- Al-Yahya'ei, M.N., F. Oehl, M. Vallino, E. Lumini, D. Redecker, A. Wiemken, P. Bonfante, 2011. Unique arbuscular mycorrhizal fungal communities uncovered in date palm plantations and surrounding desert habitats of Southern Arabia. *Mycorrhiza* 21: 195-209.
- Bárceñas, A., C. Almaraz, L. Reyes, L. Varela, B. Lara, A. Guillén, Y. Carreón, S. Aguirre, A. Chávez, 2007. Diversidad de hongos micorrizógenos arbusculares en huertos de aguacate en Michoacán. Proceedings VI World Avocado Congress, Viña del Mar, Chile.
- Bárceñas-Ortega, A., L. Varela-Fregoso, S.L. Stürmer, A.T. Chávez-Bárceñas, 2011. Catálogo de hongos micorrizógenos arbusculares de huertos de aguacate de Michoacán, México. Proceedings VII World Avocado Congress. Cairns, Australia.
- Bohrer, K.E., C.F. Friese, J.P. Amon, 2004. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in differing wetland habitats. *Mycorrhiza* 14: 329-337.
- Brundrett, M., N. Bougher, B. Dell, T. Grove, N. Malajczuk, 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. *ACIAR Monograph* 32, Canberra, Australia.
- Camargo-Ricalde, S.L., S.S. Dhillon, C. Jiménez-González, 2003. Mycorrhizal perennials of the "matorral xerófilo" and the "selva baja caducifolia" communities in the semiarid Tehuacán-Cuicatlán Valley, México. *Mycorrhiza* 13: 77-83.
- Camargo-Ricalde, S.L., M. Esperón-Rodríguez, 2005. Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, México. *Revista de Biología Tropical* 53: 339-352.
- Carballar-Hernández, S., F.J. Palma-Cruz, L. Hernández-Cuevas, C. Robles, 2013. Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological Research* 28: 217-226.
- Carreón-Abud, Y., E. Jerónimo-Treviño, M. de los A. Beltrán-Nambo, M. Martínez-Trujillo, D. Trejo A., M.E. Gavito, 2013. Aislamiento y propagación de cultivos puros de hongos micorrizos arbusculares provenientes de huertas de aguacate con diferente manejo agrícola por la técnica de minirizotróf. *Revista Mexicana de Micología* 37: 29-39.
- Carrillo-García, A., J.L. León de la Luz, Y. Bashan, G.J. Bethlenfalvay, 1999. Nurse plants, mycorrhizae and plant establishment in a disturbed area of the Sonoran Desert. *Restoration Ecology* 7: 321-335.
- Chimal-Sánchez, E., R. García-Sánchez, L.V. Hernández-Cuevas, 2015. Gran riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares en el Valle del Mezquital, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Micología* 41: 15-26.
- Chimal-Sánchez, E., N.M. Montaña, S.L. Camargo-Ricalde, L.V. Hernández-Cuevas, 2016. Nuevos registros de hongos micorrizógenos arbusculares para México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 87: 242-247.
- Coleman-Derr, D., D. Desgarennes, C. Fonseca-García, S. Gross, S. Clingenpeel, T. Woyke, G. North, A. Visel, L.P. Partida-Martínez, S.G. Tringe, 2016. Plant compartment and biogeography affect microbiome composition in cultivated and native *Agave* species. *New Phytologist* 209: 798-811.
- Cui, M., P.S. Nobel, 1992. Nutrient status, water uptake, and gas exchange for three desert succulents infected with mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 122: 643-649.
- García-Mendoza, A.J., 2007. Los agaves de México. *Ciencias* 87: 13-23.
- Gerdemann, J.W., T.H. Nicolson, 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46: 235-244.
- González-Cortés, J.C., M. Vega-Fraga, L. Varela-Fregoso, M. Martínez-Trujillo, Y. Carreón-Abud, M.E. Gavito, 2012. Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: The conversion of temperate forest to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecology* 5: 16-23.
- van der Heijden, M.G.A., J.N. Klironomos, M. Ursic, P. Moutoglis, R. Streitwolf-Engel, T. Boller, A. Wiemken, I.R. Sanders, 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- van der Heijden, M.G.A., R. Streitwolf-Engel, R. Riedl, S. Siegrist, A. Neudecker, K. Ineichen, T. Boller, A. Wiemken, I.R. Sanders, 2006. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172: 739-752.
- Hernández-Morales, J.L., C. López-Sánchez, F. Palma-Cruz, 2014. Caracterización morfológica de micorriza arbuscular asociada a *Agave potatorum* Zucc. con potencial de uso agronómico. *Revista Mexicana de Agroecosistemas* 1: 82-93.
- Jeffries, P., S. Gianinazzi, S. Perotto, K. Turnau, J.M. Barea, 2003. The contribution of arbuscular mycorrhizal fungi in sustainable maintenance of plant health and soil fertility. *Biology and Fertility of Soils* 37: 1-16.
- Lekberg, Y., R.T. Koide, J.R. Rohr, L. Aldrich-Wolfe, J.B. Morton, 2007. Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Journal of Ecology* 95: 95-105.
- Li, T., J. Li, Z. Zhao, 2004. Arbuscular mycorrhizas in a valley-type savanna in southwest China. *Mycorrhiza* 14: 323-327.
- Lugo, M.A., M.E. González M., M.N. Cabello, 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia* 95: 407-415.
- Martin, M.P., C.M. Peters, M.I. Palmer, C. Illsley, 2011. Effect of habitat and grazing on the regeneration of wild *Agave cupreata* in Guerrero, Mexico. *Forest Ecology and Management* 262: 1443-1451.
- Martínez-Palacios, A., J.M. Gómez-Sierra, C. Sáenz-Romero, N. Pérez-Nasser, N. Sánchez-Vargas, 2011. Genetic diversity of *Agave cupreata* Trel. & Berger considerations for its conservation. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34: 159-165.
- Media Cybernetics, 2001. Image Pro® Plus. Versión 4.5. Media Cybernetics, Silver Spring.
- Montaña, N.M., A. Alarcón, S.L. Camargo-Ricalde, L.V. Hernández-Cuevas, J. Álvarez-Sánchez, M. del C.A. González-Chávez, M.E. Gavito, I. Sánchez-Gallen, C. Ramos-Zapata, P. Guadarrama, I.E. Maldonado-Mendoza, S. Castillo-Argüero, R. García-Sánchez, D. Trejo, R. Ferrera-Cerrato, 2012. Research on arbuscular mycorrhizae in Mexico: An historical synthesis and future prospects. *Symbiosis* 57: 11-126.
- Ochoa-Meza, A., M. Esqueda, R. Fernández-Valle, R. Herrera-Peraza, 2009. Variación estacional de hongos micorrizos arbusculares asociados con *Agave angustifolia* Haw. en la Sierra Sonorense, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32: 189-199.
- Oehl, F., E. Sieverding, K. Ineichen, P. Mäder, A. Wiemken, T. Boller, 2009. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 134: 257-268.
- Oliveira, A.N., L.A. de Oliveira, 2005. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi in plants of *Theobroma grandiflorum* Schum and *Paullinia cupana* Mart. of an agroforestry system in



- central Amazonia, Amazonas state, Brazil. *Brazilian Journal of Microbiology* 36: 262-270.
- Öpik, M., M. Zobel, J.J. Cantero, J. Davison, J.M. Facelli, I. Hiiesalu, T. Jairus, J.M. Kalwij, K. Koorem, M.E. Leal, J. Liira, M. Metsis, V. Neshataeva, J. Paal, C. Phosri, S. Pölme, Ü. Reier, Ü. Saks, H. Schimann, O. Thiéry, M. Vasar, M. Moora, 2013. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 23: 411-430.
- Pringle, A., J.D. Bever, 2002. Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. *American Journal of Botany* 89: 1439-1446.
- Redecker, D., A. Schüßler, H. Stockinger, S.L. Stürmer, J.B. Morton, C. Walker, 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23: 515-531.
- Schenck, N.C., Y. Pérez, 1990. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi* (3th ed.). Synergistic Publications, Gainesville.
- Schüßler, A., D. Schwarzott, C. Walker, 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Research* 105: 1413-1421.
- Schüßler, A., C. Walker, 2010. *The Glomeromycota: a species list with new families and new genera*. The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.
- Šmilauer, P., 2011. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in grassland: Seasonal variability and effects of environment and host plants. *Folia Geobotanica* 36: 243-263.
- Smith, S.E., D.J. Read, 2008. *Mycorrhizal symbiosis* (3th ed.). Academic Press, Cambridge.
- Stutz, J.C., R. Copeman, C.A. Martin, J.B. Morton, 2000. Patterns of species composition and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in arid regions of southwestern North America and Namibia, Africa. *Canadian Journal of Botany* 78: 237-245.
- Su, Y. Y., X. Sun, L.D. Guo, 2011. Seasonality and host preference of arbuscular mycorrhizal fungi of five plant species in the inner Mongolia steppe, China. *Brazilian Journal of Microbiology* 42: 57-65.
- Tapia-Goné, J., R. Ferrera-Cerrato, L. Varela-Fregoso, J.C. Rodríguez O., J. Lara M., J.C. Soria C., H.C. Torres, M.A. Tiscareño I., R. Cisneros A., 2008. Caracterización e identificación morfológica de hongos formadores de micorriza arbuscular, en cinco suelos salinos del estado de San Luis Potosí, México. *Revista Mexicana de Micología* 26: 1-7.
- Tarkka, M., S. Schrey, R. Hampp, 2008. Plant associated soil microorganisms. In: Nautiyal, C.S., P. Dion (eds.), *Molecular mechanisms of plant and microbe coexistence*. Springer, Berlin. Pp. 3-51.
- Trejo-Aguilar D., L. Lara-Capistrán, I.E. Madonado-Mendoza, R. Zulueta-Rodríguez, W. Sangabriel-Conde, M.E. Mancera-López, S. Negrete-Yankelevich, I. Barois, 2013. Loss of arbuscular mycorrhizal fungal diversity in trap cultures during long-term subculturing. *IMA Fungus* 4: 161-167.
- Velázquez S., M. Cabello, 2011. Occurrence and diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trap cultures from El Palmar National Park soils. *European Journal of Soil Biology* 47: 230-235.
- Wolfe E., B., D.L. Mummey, M.C. Rillig, J.N. Klironomos, 2007. Small-scale spatial heterogeneity of arbuscular mycorrhizal fungal abundance and community composition in a wetland plant community. *Mycorrhiza* 17: 175-183.
- Zak, D.R., W.E. Holmes, D.C. White, A.D. Peacock, D. Tilman, 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: Are there any links? *Ecology* 84: 2042-2050.
- Zangaro, W., L.V. Rostirola, P.B. de Souza, R. de A. Alves, L.E.A.M. Lescano, A.B.L. Rondina, M.A. Nogueira, R. Carrenho, 2013. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. *Mycorrhiza* 23: 221-233.