

Evaluación y caracterización morfológica de aislados de micorrizas nativas asociadas a tomatillo*

Assessment and morphological characterization from isolates of native mycorrhizal associated with tomatillo

Flor S. Hernández-Hernández¹, Rosalinda Mendoza-Villarreal^{2§}, Valentín Robledo-Torres², Adrien Gallou³, Antonio Cárdenas-Flores⁴ y Luis A. Valdez-Aguilar²

¹Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Ciencias en Horticultura. ²Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro-Departamento de Horticultura. Calzada Antonio Narro 1923. Buenavista. Saltillo. Coahuila C. P. 25315. México. ³Centro Nacional de Referencia de Control Biológico. Laboratorio de biología molecular. Carretera Tecmán-Estación FFCC. A. P. 67, Col. Tepeyac. C. P. 28110 Tecmán, Colima, México. ⁴Centro de Investigación de Química Aplicada. Blvd. Enrique Reyna Hermosillo No. 140 C. P. 25294. Saltillo, Coahuila México. [§]Autor de correspondencia: rosalingdamendoza@hotmail.com.

Resumen

La diversidad de hongos micorrizicos arbusculares (HMA) son una alternativa de biofertilización en la agricultura, lo que hace necesario estudios que permitan evaluar la relación de comunidades de HMA respecto a condiciones fisicoquímicas del suelo y hospedero. En 2014, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro se evaluaron y caracterizaron morfológicamente esporas nativas de HMA asociadas a tomatillo, cultivo trampa (trigo) bajo condiciones controladas. Se llevó a cabo un muestreo de suelo (perfil: 0-30 cm) en Arteaga Coahuila del cual se realizó análisis fisicoquímico de suelo (MO, N, P, K, pH y textura), se extrajeron esporas de HMA asociadas en la rizósfera de tomatillo cultivado y silvestre mediante tamizado húmedo y decantación (tamiz abertura de: 50 μ m, 325 μ m, 400 μ m); se realizó agrupación morfológica (forma, color y tamaño), se estableció cultivo monospórico (trigo), en macetas de 1 L, con arena como sustrato (estéril), y fertilización Steiner modificada en fósforo al 20%. Se realizó caracterización morfológica de aislados micorrizicos (INVAM, 2014). Se obtuvieron 21 morfotipos (12 de silvestre y 9 de cultivado), de los cuales 9 del sistema silvestre establecieron simbiosis y dos del sistema cultivado. El contenido de N, P, K y MO fue mayor en el suelo del sistema agrícola en comparación

Abstract

The diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (HMA) is an alternative for biofertilization in agriculture, which makes necessary to perform studies to assess the relationship of HMA communities regarding soil physicochemical conditions and host. In 2014, at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro evaluated and morphologically characterized native spores of HMA associated with tomatillo, trap crop (wheat) under controlled conditions. A soil sampling was conducted (profile: 0-30 cm) in Arteaga Coahuila to perform a physicochemical analysis of soil (MO, N, P, K, pH and texture), HMA spores associated to the rhizosphere from tomatillo cultivated and wild were extracted through wet sieving and decanting (sieve opening: 50 μ m, 325 μ m, 400 μ m); grouping by morphology (shape, color and size), a monosporic crop (wheat) was established in pots of 1 L, with sand as substrate (sterile), and Steiner solution modified in phosphorus at 20%. Morphological characterization of mycorrhizal isolates (INVAM, 2014) was performed. 21 morphotypes (12 wild and 9 cultivated) were obtained, of which 9 from the wild system established symbiosis and two from the cultivated system. N, P, K and MO content was higher in the soil from the agricultural system compared to wild; both soils are classified as alkaline.

* Recibido: junio de 2015
Aceptado: septiembre de 2015

al silvestre, ambos suelos son clasificados como alcalinos. La cantidad de N, P, K y MO en los dos diferentes sistemas donde se desarrollaron las micorrizas fueron factores que influyeron sobre el establecimiento de simbiosis en trigo y caracteres morfológicos de HMA bajo condiciones controladas.

Palabras clave: morfología, potencial de inóculo, tomatillo, trigo.

Introducción

La importancia de las funciones de la biodiversidad ha ido aumentando a través del tiempo Cardinale *et al.* (2007), a razón de entender y mejorar la funcionalidad y producción de sistemas agrícolas Tilman *et al.* (1996); (Moonen y Bàrberi, 2008). La preocupación viene de la demanda mundial de alimentos, se ha proyectado que la población mundial a finales de este siglo será de once mil millones (ONU, 2011). En consecuencia crecerá la demanda de los recursos tales como la tierra, energía, biomasa, y reservas de fósforo. El reto está en alimentar a la totalidad de la población sin causar daños con consecuencias irremediables para el medio ambiente (Rockström *et al.*, 2009a; Rockström *et al.*, 2009b).

Los flujos de nitrógeno reactivo y fósforo representan un gran peligro para el ecosistema, en general el flujo de nutrientes excesivos causan eutrofización en consecuencia la biodiversidad disminuye, este es uno de tantos problemas ocasionados por la agricultura tratando de satisfacer la demanda de alimentos. La diversidad microbiana del suelo ha tomado demasiada importancia hasta la fecha debido a que tienen la capacidad de mejorar la eficiencia en el uso de nutrientes, aumentan la estabilidad de agregados del suelo, mejoran la formación de materia orgánica y el uso eficiente de agua (Mäder *et al.*, 2002; Brussaard *et al.*, 2007).

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA; Glomeromycota; Schüßler *et al.* (2001) son microorganismos que establecen simbiosis con más de 80% de las plantas terrestres (Read *et al.*, 2008). Esta simbiosis que surge desde más de 450 millones de años, es sin duda la simbiosis más abundante del mundo (van der Heijden *et al.*, 2008). Los HMA poseen la capacidad de proporcionar importantes servicios ecosistémicos (Philippot *et al.*, 2013) tales como tolerancia a estrés biótico y abiótico, mejoran la absorción de agua y nutrientes (Hodge y Storer, 2015) y la plasticidad fenotípica

The amount of N, P, K and MO in the two systems where mycorrhizae develops, were factors that influenced on the establishment of symbiosis in wheat and morphological characters of HMA under controlled conditions.

Keywords: morphology, potential inoculum, tomatillo, wheat.

Introduction

The importance of biodiversity functions have been increasing over time Cardinale *et al.* (2007), a reason to understand and improve the functionality and production of agricultural systems Tilman *et al.* (1996); (Moonen and Bàrberi, 2008). The concern comes from the global demand for food, as it has been projected that world population will be eleven billion by the end of this century (UN, 2011). Consequently the demand for resources such as land, energy, biomass, and phosphorus reserves will grow. The challenge is to feed the entire population without causing damage with irreparable consequences to the environment (Rockström *et al.*, 2009a; Rockström *et al.*, 2009b).

Flows of reactive nitrogen and phosphorus represent a great danger to the ecosystem, in general the flow of excess nutrients causes eutrophication, consequently biodiversity decreases, this is one of many problems caused by agriculture trying to meet the demand for food. Soil microbial diversity has taken too much importance until now because this have the ability to improve the efficiency in nutrients use, increase soil aggregate stability, improve the formation of organic matter and water efficiency (Mäder *et al.*, 2002; Brussaard *et al.*, 2007).

Arbuscular mycorrhizal fungi (HMA; Glomeromycota; Schüßler *et al.* (2001) are microorganisms that establish symbiosis with more than 80% of terrestrial plants (Read *et al.*, 2008). This symbiosis that arises from more than 450 million years is undoubtedly the most abundant symbiosis from the world (van der Heijden *et al.*, 2008). HMA have the ability to provide important ecosystem services (Philippot *et al.*, 2013) such as tolerance to biotic and abiotic stress, improve water and nutrients absorption (Hodge and Storer, 2015) and plant phenotypic plasticity. This symbiosis represents an important advantage in heterogeneous environments where resource allocation is limited between growth and resistance to various stresses leading the plant

de las plantas. Esta simbiosis representa un ventaja de suma importancia en entornos heterogéneos donde la asignación de recursos es limitada entre el crecimiento y la resistencia a diferentes estreses lo que lleva a la planta a adaptarse y sobrevivir (Pozo *et al.*, 2015). A pesar de la gran cantidad de estudios ecológicos que van enfocados a la diversidad en función de eco y agroecosistema la información es limitada (Shennan 2008; Toljander *et al.*, 2008).

La evidencia que existe actualmente sobre el número de especies en el filo de Glomeromycota Schüßler *et al.* (2001) es de aproximadamente 200 (Redecker *et al.*, 2000). Sin embargo, el número de especies puede ser en realidad de magnitud mayor (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2002). Una razón por la cual se reporta un bajo número de especies es por cuestiones técnicas ya que la delimitación taxonómica es uno de los mayores problemas.

La taxonomía actual sigue siendo la determinación de caracteres morfológicos de esporas asexuales en descanso Vandenkoornhuyse *et al.* (2003); sin embargo, esto no descarta la utilidad de determinar caracteres morfológicos y técnicas moleculares para confirmar los tipos de HMA presentes en el suelo y la cantidad. Su aislamiento permite estudiar más profundamente al organismo al cual pertenecen y la relación entre la estructuración genética de las comunidades de hongos micorrícicos, eficiencia y diversidad funcional están relacionadas con las condiciones ambientales y especies vegetales. Los sistemas agrícolas están sometidos a presiones de selección de microorganismos tanto patógenos como benéficos debido a ciclos cortos de cultivos de interés agrícola, característica que no comparten los sistemas naturales (Burdon y Thrall, 2008). Es por ello que en la presente investigación se planteó el objetivo de evaluar y caracterizar a nivel morfológico aislados monospóricos de HMA nativos asociados a tomatillo en plantas de trigo bajo condiciones controladas.

Materiales y Métodos

Muestreo de suelo

En diciembre del 2012, fueron tomadas muestras de suelo de 1 kg en área natural (no cultivada) y suelo de uso agrícola. La muestra fue tomada de la rizosfera de tomatillo cultivado (variedad rendidora) y tomatillo silvestre en un perfil de 0-30 cm de profundidad. En dos localidades de Arteaga, Coahuila, México 25° 20' 56.35" latitud norte- 100° 40' 45.84" longitud

to adapt and survive (Pozo *et al.*, 2015). Despite the large number of ecological studies that are focused on diversity in function of eco and agro-ecosystem, the information is limited (Shennan 2008; Toljander *et al.*, 2008).

The actual evidence on the number of species on the edge of Glomeromycota Schüßler *et al.* (2001) is close to 200 (Redecker *et al.*, 2000). However, the number of species may actually be of greater magnitude (Vandenkoornhuyse *et al.*, 2002). One reason why a small number of species are reported is for technical reasons since taxonomic delimitation is one of the major problems.

The current taxonomy is still the determination of morphological characters of asexual spores at rest Vandenkoornhuyse *et al.* (2003); however, this does not discard the usefulness of determining morphological characters and molecular techniques to confirm the types of HMA present in the soil and the amount. Their isolation allows to study more deeply the organism to which they belong and the relationship between genetic structure of mycorrhizal fungi communities, efficiency and functional diversity are related to environmental conditions and plant species. Agricultural systems are subjected to selection pressures of both pathogens and beneficial microorganisms due to short crop cycles of agricultural interest, feature not shared by natural systems (Burdon and Thrall, 2008). That is why in this research aimed to evaluate and characterize at morphological level monosporic isolates of native HMA associated with tomatillo in wheat plants under controlled conditions.

Materials and methods

Soil sampling

In December 2012, were taken soil samples of 1 kg in a natural area (not cultivated) and soil for agricultural use. The sample was taken from the rhizosphere of cultivated tomatillo (rendidora variety) and wild tomatillo in the profile of 0-30 cm deep. In two locations of Arteaga, Coahuila, Mexico 25° 20' 56.35" north latitude - 100° 40' 45.84" west longitude and 25° 23' 23.63" north latitude - 100° 37' 33.97" west longitude respectively. Note that tomatillo has been grown for 10 consecutive years and regarding tomatillo from the natural system it has remained the same time without cultural practices.

oeste y 25° 23' 23.63" latitud norte 100° 37' 33.97 longitud oeste respectivamente. Cabe destacar que el tomatillo ha sido cultivado por 10 años consecutivos y en lo que respecta a tomatillo del sistema natural ha permanecido por el mismo periodo de tiempo sin labores culturales.

Análisis fisicoquímico de suelo

Se realizaron dos análisis de suelo en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (25° 23' latitud norte - 101° 02' longitud oeste) en el departamento de suelos, con el objeto de determinar condiciones fisicoquímicas donde se desarrollaron plantas de tomatillo y trigo, se determinó materia orgánica utilizando el método de Walkley y Black Bornemisza (1979), nitrógeno (N) con el método Kjeldhal Bremner (1960), fósforo (P) Olsen (1954), potasio (K) (espectrometría de absorción atómica), pH (suelo: agua 2: 4) y textura (Bouyoucos, 1936).

Cultivo monospórico

Las esporas de hongos micorrizicos arbusculares se extrajeron de las muestras de suelo mediante el método de tamizado húmedo (núm. tamiz: 50, 325 y 400 µm) y decantación Gerdemann *et al.* (1963) seguido de un gradiente de sacarosa 2 M (Furlan *et al.*, 1980; Horn *et al.*, 1992). Se realizó una agrupación morfológica considerando forma, color y tamaño (INVAM, 2014). Los morfotipos obtenidos se inocularon en plántulas de *Triticum aestivum* L. (1 espora por planta/10 repeticiones). El cultivo monospórico se estableció en macetas de 1 litro de capacidad, y como sustrato arena estéril, además para evitar contaminación se cubrieron las macetas con plástico. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura promedio de 40 °C, se aplicó solución nutritiva Steiner *et al.* (1973) modificada en fósforo 20%, pH de 7.5- 8, aplicando riegos a diario. Se realizaron muestreo de suelo mensualmente para evaluar la propagación de la espora inoculada de los diferentes morfotipos; en el cuarto mes se colocó una semilla de trigo por maceta para un segundo ciclo de cultivo con la finalidad que la espora se multiplicara y estableciera simbiosis. Además, las plantas se sometieron a estrés hídrico, suspendiendo totalmente el riego en los últimos dos meses con el objeto de acelerar dicha simbiosis.

Colonización de raíz (*Triticum aestivum* L.)

Con el objeto de determinar el grado de colonización radical se llevó a cabo en el octavo mes el análisis de cada una de las macetas por morfotipo. Para evaluar simbiosis exitosa de los

Physicochemical analysis of soil

Two soil analysis were performed at the Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (25° 23' north latitude - 101° 02' west longitude) in the soil department, in order to determine the physicochemical conditions where tomatillo and wheat plants developed, organic matter was determined using the method of Walkley and Black Bornemisza (1979), nitrogen (N) with Kjeldahl Bremner (1960), phosphorus (P) Olsen (1954), potassium (K) (atomic absorption spectrometry), pH (soil: water 2: 4) and texture (Bouyoucos, 1936).

Monosporic culture

The spores from arbuscular mycorrhizal fungi were extracted from the soil samples through wet sieving (sieve. 50, 325 and 400µm) and decanting Gerdemann *et al.* (1963) followed by a gradient of 2M sucrose (Furlan *et al.*, 1980; Horn *et al.*, 1992). A morphological clustering was performed considering shape, color and size (INVAM, 2014). The obtained morphotypes were inoculated in *Triticum aestivum* L. (1 spore per plant / 10 reps) seedlings. The monosporic culture was established in pots of 1 liter capacity, and as substrate sterile sand, also to avoid contamination the pots were covered with plastic. The plants were kept in a greenhouse at an average temperature of 40 °C, Steiner *et al.*, (1973) nutrient solution was applied, modified in phosphorus 20%, pH 7.5 - 8, watering daily. Soil samplings were performed monthly to evaluate the propagation of the inoculated spore with different morphotypes; in the fourth month, one wheat seed was placed per pot for a second crop cycle in order for the spores to multiply and establish symbiosis. In addition, the plants were subjected to water stress, completely suspending the irrigation in the last two months in order to accelerate this symbiosis.

Root colonization (*Triticum aestivum* L.)

In order to determine the degree of root colonization, an analysis was carried out in the eighth month of each of pot by morphotype. To assess successful symbiosis from morphotypes of arbuscular mycorrhizal fungi on wheat were clarified and stained with trypan blue wheat root fragments of 1cm length from the different morphotypes following technique Clarification-staining roots and estimating root colonization by mycorrhizal -arbuscular fungi (Walker *et al.*, 2005). Finally, the root fragments were mounted vertically

morfotipos de hongos micorrícicos arbusculares en trigo se clarificaron y tiñeron con azul de tripano fragmentos de raíz de trigo de 1 cm de longitud de los diferentes morfotipos siguiendo la técnica de Clarificación-Tinción de raíces y estimación de la colonización radical por hongos micorrícicos -Arbusculares (Walker *et al.*, 2005). Finalmente, los fragmentos de raíz se montaron de manera vertical sobre portaobjetos (3 laminillas por planta/ 50 observaciones) agregando una gota de glicerol acidificado fresco para la observación al microscopio para estimación de la colonización (McGonigle *et al.*, 1990).

Análisis morfológico

Las características morfológicas de esporas fueron descritas de esporas montadas en una mezcla (1:1) de reactivo de PVLG y Melzer (Brundrett *et al.*, 1994). Para el color y forma se tomó como referencia la colección internacional de HMA (INVAM, 2014). Las fotografías fueron tomadas en microscopio óptico (Axio Scope A1, Carl Zeiss, Microscopy GmbH, Gottingen, Germany) con cámara integrada modelo Axio Cam Icc 1 objetivo 10 X, las mediciones se realizaron con el software Axion Visión Release 4.8.2.

Análisis estadístico

Para el procesamiento de los datos se utilizó el paquete Statistical Analysis Systems (SAS) 2013. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) y prueba de comparación de medias Tukey (≤ 0.05).

Resultados y discusión

Análisis fisicoquímico de suelo

El Cuadro 1 muestra a detalle los resultados del análisis fisicoquímico de suelo en donde se desarrollaron plantas de tomatillo bajo los sistemas de uso agrícola (TC) y sistema natural (TS). Se observa que las plantas de tomatillo de ambos sistemas se desarrollaron en suelos alcalinos, clase textural arcilla y migajón arcillo arenoso respectivamente; el contenido de materia orgánica (M.O), nitrógeno (N), fósforo (P) y potasio es mayor en suelo de uso agrícola (TC) en comparación de suelo de un sistema natural (TS). Estudios realizados a largo

on slides (3 slides per plant/ 50 observations) adding a drop of fresh acidified glycerol for observation under microscope to estimate colonization (McGonigle *et al.*, 1990).

Morphological analysis

The morphological characteristics of spores were described from spores mounted in a mixture (1: 1) reagent PVLG and Melzer (Brundrett *et al.*, 1994). For color and shape was taken as reference the international collection of HMA (INVAM, 2014). The pictures were taken in light microscope (Axio Scope A1, Carl Zeiss Microscopy GmbH, Gottingen, Germany) with integrated camera Axio Cam Icc 1 10X objective, measurements were performed using the software Axion Vision Release 4.8.2.

Statistical analysis

For data processing Statistical Analysis Systems (SAS) 2013 was used. An analysis of variance (ANOVA) and mean comparison Tukey (≤ 0.05) was conducted.

Results and discussion

Physicochemical analysis of soil

Table 1 shows in detail the results of physicochemical analysis where tomatillo plants were grown under agricultural systems (TC) and natural system (TS). It is noted that tomatillo plants of both systems grew in alkaline soils, soil texture clay and sandy clay loam respectively; organic matter content (MO), nitrogen (N), phosphorus (P) and potassium is higher in soil for agricultural use (TC) compared to a natural soil system (TS). Long-term studies have shown that fertilization cause significant impact on arbuscular mycorrhizal fungi communities both in species diversity and its functioning (Thomson *et al.*, 1992; Kahiluoto *et al.*, 2009).

Characteristics from arbuscular mycorrhizal fungi differ, because studies have shown that some species form more than one spore morphotype Stockinger *et al.* (2009); however, the current characterization performed in this study, indicates the types of arbuscular mycorrhizal fungi present in soil and their abundance. This likewise allows isolation to study more deeply the body belongs.

plazo han demostrado que la fertilización causa impacto significativo en las comunidades de hongos micorrícicos arbusculares tanto en la diversidad de especies como su funcionamiento (Thomson *et al.*, 1992; Kahiluoto *et al.*, 2009).

Cuadro 1. Características fisicoquímicas de suelo donde se desarrollaron plantas de tomatillo bajo dos sistemas diferentes. Table 1. Physicochemical characteristics of soil where plants tomatillo developed under two different systems.

Suelo	Materia orgánica (%)	Nitrógeno (%)	Fósforo (ppm)	Potasio (ppm)	pH	Textura (%)
TC	4.5	0.22	40.3	450	8.6	Arcilla
TS	3.7	0.16	18.7	210	8.5	Migajón arcillo arenoso

*TC= tomatillo cultivado; TS= tomatillo silvestre.

Las características de hongos micorrícicos arbusculares difieren, ya que estudios realizados han demostrado que algunas especies forman más de un morfotipo de esporas Stockinger *et al.* (2009); sin embargo, la presente caracterización realizada en este estudio indica los tipos de hongos micorrícicos arbusculares presentes en dicho suelo y su abundancia. Esto de igual forma permite su aislamiento para estudiar a mayor profundidad al organismo que pertenece.

Análisis morfológico

La diversidad morfológica de esporas de hongos micorrícicos arbusculares que se encontraron asociados a la rizósfera de tomatillo de suelo silvestre (TS) fue mayor comparado con tomatillo cultivado (TC) (Figura 1). Se ha demostrado en diferentes estudios que los sistemas agrícolas están expuestos a presiones de selección microbiana muy intensos debido a ciclos cortos y manejo de cultivo por lo tanto la esporulación de hongos micorrícicos arbusculares se ve afectada por la agricultura siendo totalmente lo contrario en sistemas naturales Burdon y Thrall (2008); Oehl *et al.* (2003), lo que concuerda con los resultados obtenidos en el presente estudio.

De acuerdo a las características morfológicas de las esporas asociadas a la rizósfera de tomatillo cultivado (variedad rendidora) se agruparon nueve morfotipos (Cuadro 2).

La prueba de comparación de medias Tukey (≤ 0.05) señala que los morfotipos C7 y C4 presentan mayor diámetro ecuatorial como meridional con 202 μm - 190 μm ; 184 μm -188 μm respectivamente; mientras que el morfotipo C6 presenta menor diámetro con 100 μm - 117 μm , los colores de espora determinados son: 0-50-60-0 (reddish-orange), 20-80-100-0 (red-brown) y 0-20-60-0 (red-brown) siendo este observado con mayor frecuencia, la totalidad de los morfotipos presentó forma globosa- subglobosa.

Morphological analysis

The morphological diversity of spores from arbuscular mycorrhizal fungi that were associated to tomatillo rhizosphere from wild soil (TS) was higher compared to

cultivated tomatillo (TC) (Figure 1). It has been shown in several studies that agricultural systems are exposed to intense microbial selection pressures due to short cycles and crop management, therefore sporulation of arbuscular mycorrhizal fungi is affected by agriculture, being the opposite in natural systems Burdon and Thrall (2008); Oehl *et al.* (2003), which is consistent with the results obtained in this study.

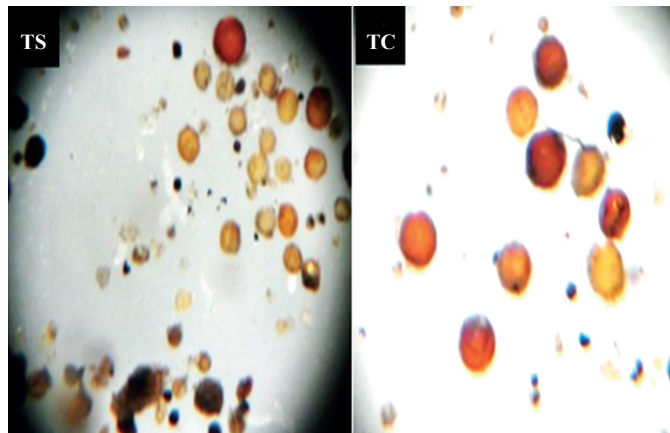


Figura 1. Diversidad morfológica de hongos micorrícicos arbusculares asociados a rizósfera de tomatillo silvestre (TS) y tomatillo cultivado (TC) (objetivo 3X).

Figure 1. Morphological diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with rhizosphere of wild tomatillo (TS) and tomatillo cultivated (TC) (objective 3 X).

According to the morphological characteristics of the spores associated to the rhizosphere of cultivated tomatillo (rendidora variety) nine morphotypes (Table 2) were grouped.

Cuadro 2. Características morfológicas de esporas de hongos micorrícicos arbusculares asociados a rizósfera de tomatillo cultivado (*Physalis ixocarpa* cv. Rendidora).

Table 2. Morphological characteristics of spores of arbuscular mycorrhizal fungi associated to rhizosphere grown tomatillo (*Physalis ixocarpa* cv. Rendidora).

Morfotipos	Color	Forma	DE (μm)	DM (μm)
C1	0-20-60-0	Globosa-Subglobosa	123cd	126ed
C2	0-50-60-0	Globosa-Subglobosa	146b	154cb
C3	0-50-60-0	Globosa-Subglobosa	140cb	144cd
C4	0-20-60-0	Globosa-Subglobosa	184a	188 ^a
C5	0-20-60-0	Globosa-Subglobosa	158b	166b
C6	0-20-60-0	Globosa-Subglobosa	100e	117e
C7	0-50-60-0	Globosa-Subglobosa	202a	190 ^a
C8	20-80-100-0	Globosa-Subglobosa	117ed	121e
C9	20-80-100-0	Globosa-Subglobosa	153b	151cb

*0-20-60-0= red- brown, 0-50-60-0=reddish-orange, 20-80-100-0= red- brown (INVAM, 2014). DE= diámetro ecuatorial; DM= Diámetro meridional. Promedios con la misma letra indican diferencia no significativa (Tukey's 0.05).

En el Cuadro 3 se muestra la agrupación de 12 morfotipos asociados a la rizósfera de tomatillo silvestre de acuerdo a las características morfológicas de la espora. La prueba de comparación de medias Tukey (≤ 0.05) señala que el morfotipo S9 presenta mayor diámetro ecuatorial y meridional con 249 μm -238 μm mientras que el morfotipo S7 presenta diámetros de 95 μm -104 μm considerándose como el morfotipo de menor tamaño; los colores de espora determinados son: 20-80-100-0 (red-brown), 0-10-90-5 (orange), 0-60-100-10 (orange brown) y 0-50-60-0 (reddish-orange) observando con mayor frecuencia a 0-60-100-10 (orange brown), la forma de la totalidad de morfotipos es globosa- subglobosa.

Means comparison test Tukey (≤ 0.05) indicates that the C7 and C4 morphotypes have greater equatorial and meridional diameter with 202 μm - 190 μm ; 184 μm - 188 μm respectively; while morphotype C6 has smaller diameter 100 μm - 117 μm , certain spore colors are 0-50-60-0 (reddish-orange), 20-80-100-0 (red- brown) and 0-20-60-0 (red- brown) being this the most frequently observed, most morphotypes showed a globular - subglobular shape.

Table 3 shows the grouping of 12 morphotypes associated with rhizosphere of wild tomatillo according to the morphological characteristics of the spore. Means comparison test

Cuadro 3. Características morfológicas de esporas de hongos micorrícicos arbusculares asociados a rizósfera de tomatillo silvestre.

Table 3. Morphological arbuscular mycorrhizal fungi spores associated with rhizosphere of wild tomatillo Features.

Morfotipos	Color	Forma	Diámetro ecuatorial (μm)	Diámetro meridional (μm)
S1	20-80-100-0	Globosa-Subglobosa	150f	149f
S2	0-10-90-5	Globosa-Subglobosa	123i	135g
S3	0-60-100-10	Globosa-Subglobosa	187b	164ed
S4	0-60-100-10	Globosa-Subglobosa	152f	174cb
S5	0-10-60-0	Globosa-Subglobosa	120i	118i
S6	0-10-90-5	Globosa-Subglobosa	164e	163e
S7	0-60-100-10	Globosa-Subglobosa	95j	104j
S8	20-80-100-0	Globosa-Subglobosa	132h	127h
S9	0-50-60-0	Globosa-Subglobosa	249a	238a
S10	0-20-60-0	Globosa-Subglobosa	180c	176b
S11	0-60-100-10	Globosa-Subglobosa	174d	169cd
S12	0-60-100-10	Globosa-Subglobosa	139g	139g

*20-80-100-0=red-brown, 0-10-90-5=orange, 0-60-100-10=orange brown, 0-10-60-0=pale orange-yellow, 0-50-60-0=reddish-orange, 0-20-60-0=red brown (INVAM, 2014). Promedios con la misma letra indican diferencia no significativa (Tukey $p \leq 0.05$).

En el presente estudio se determinó que existe mayor diversidad morfológica de esporas de hongos micorrícicos arbusculares asociados a la rizósfera de tomatillo silvestre con 12 morfotipos en comparación al tomatillo cultivado con nine morfotipos, es importante señalar que las plantas de tomatillo de los dos sistemas se han desarrollado en este sitio por un periodo de 10 años. Se han realizado publicaciones recientes Oehl *et al.* (2009) donde demuestran que las tierras cultivadas realizando rotación de cultivos y la presencia de malezas o hierbas perenes (trébol) resultaron ser más ricas en especies de hongos micorrícicos arbusculares, efecto contrario resultó en cultivos que se siembran consecutivamente (monocultivos) e incluso más ricos que pastizales naturales, por lo que es evidente que los resultados de diversidad morfológica de esporas de hongos micorrícicos arbusculares sean menores en tomatillo cultivado debido a que es un sistema de agricultura intensiva por lo tanto la presencia de otros hospedantes (malezas) es nula o mínima por periodos muy cortos que no hay oportunidad de que se expresen más morfotipos de micorrizas, viceversa en el sistema natural de tomatillo silvestre.

Estudios realizados a largo plazo han demostrado el impacto de la fertilización sobre las comunidades de hongos micorrícicos arbusculares reportando impactos negativos sobre la composición y funcionamiento de las diferentes especies (Thomson *et al.*, 1992; Kahiluoto *et al.*, 2009). Se ha encontrado que la adición de fertilizantes nitrogenados pueden alterar la diversidad funcional de micorrizas arbusculares, además, realizando fertilización alta de nitrógeno en suelos ricos en fósforo disminuyen la riqueza y diversidad de las comunidades de hongos micorrícicos arbusculares (Egerton y Warburton *et al.*, 2007). Debido a lo anterior se puede entender que tomatillo silvestre presentó mayor diversidad esporal de micorrizas debido a las limitaciones de nitrógeno presentando 0.16% con clasificación según análisis fisicoquímico como un suelo medio en comparación de tomatillo cultivado (variedad rendidora) con 0.22% considerado medianamente rico.

La materia orgánica y pH son parámetros que influyen en la composición de los hongos micorrícicos arbusculares, estudios realizados en Colombia encontraron alta diversidad y abundancia de hongos micorrícicos arbusculares en suelos ácidos (Serralde y Ramírez, 2004). La relación real ya sea fuerte o débil (Hijri *et al.*, 2006) entre las propiedades del suelo y la distribución de especies de hongos micorrícicos arbusculares en condiciones de campo es poco conocido (Carvalho *et al.*, 2003).

Tukey (≤ 0.05) indicates that morphotype S9 presents higher equatorial and meridional diameter with 249 μm and 238 μm - while morphotype S7 presents diameters of 95 μm - 104 μm considered as morphotype with the smallest size; determined spore colors are: 20-80-100-0 (red-brown), 0-10-90-5 (orange), 0-60-100-10 (orange brown) and 0-50-60-0 (reddish-orange) observed more frequently at 0-60-100-10 (orange brown), the shape of all morphotypes is globular or subglobular.

In this study it was determined that there is greater morphological diversity of arbuscular mycorrhizal fungi spores associated with the rhizosphere of wild tomatillo with 12 morphotypes compared to nine morphotypes of cultivated tomatillo, it is important to note that tomatillo plants from the two systems have been grown on this site during 10 years. There have been recent publications Oehl *et al.* (2009) showing that in cultivated land with crop rotation and presence of weeds or perennial grasses (clover) were more rich in species of arbuscular mycorrhizal fungi, contrary to that happening in crops consecutively planted (monoculture) and even richer than natural grasslands, so it is clear that the results of morphological diversity of spores of arbuscular mycorrhizal fungi are lower in cultivated tomatillo because it is an intensive agricultural system, therefore the presence of other hosts (weeds) is zero or minimum for very short periods that there is no opportunity for more mycorrhizal morphotypes to express and vice versa in the natural wild tomatillo system.

Long-term studies have shown the impact of fertilization on arbuscular mycorrhizal fungi communities, reporting negative impacts on the composition and functionality of the different species (Thomson *et al.*, 1992; Kahiluoto *et al.*, 2009). It has been found that the addition of nitrogen fertilizers can alter the functional diversity of arbuscular mycorrhizae, besides, performing high nitrogen fertilization in soils rich in phosphorus decrease the richness and diversity of the communities of arbuscular mycorrhizal fungi (Egerton and Warburton *et al.*, 2007). From the latter can be understood that wild tomatillo had higher spore diversity of mycorrhizal due to nitrogen limitations presenting 0.16% rated according to the physicochemical analysis as mid-soil compared to cultivated tomatillo (rendidora variety) with 0.22% considered moderately rich.

Organic matter and pH are parameters that influence on the composition of arbuscular mycorrhizal fungi; studies made in Colombia found high diversity and abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in acid soils (Serralde and

Análisis morfológico de aislados micorrícicos en trigo (*Triticum aestivum* L.)

Las esporas resultantes de los aislados presentan forma globosa- subglobosa, el diámetro ecuatorial (DE) de los aislados de sistema silvestre y cultivado oscilan de 108 μm - 170 μm y el diámetro meridional (DM) de 112 μm - 196 μm , el espesor de su pared esporal (EPE) es de 7 μm - 12.8 μm , los colores de la espora de los diferentes aislados fueron: 0-60-100-10 (orange- brown), 0-10-60-0 (pale orange-yellow), 0-10-90-5 (orange), 0-0-40-0 (pale yellow), 0-50-60-0 (reddish-orange), 0-20-60-0 (red-brown), el número de capas de la espora es de 1 en su mayoría a excepción del morfotipo S1 quien presenta dos capas esporales, el total de morfotipos presenta vesícula y arbusculo (Cuadro 4).

Cuadro 4. Características morfológicas de aislados de hongos micorrícicos arbusculares asociados a rizósfera de trigo (*Triticum aestivum* L.).

Table 4. Morphological characteristics of isolates of arbuscular mycorrhizal fungi associated with rhizosphere of wheat (*Triticum aestivum* L.).

M	DE μm	DM μm	Forma	EPE μm	Color	NC	V/A
S1	140bdc	136edc	Globosa-Subglobosa	9.2bc	0-60-100-10	2	Si
S2	123dc	129ed	Globosa-Subglobosa	10.7ba	0-60-100-10	1	Si
S3	163ba	164bac	Globosa-Subglobosa	8.8bc	0-60-100-10	1	Si
S4	150bac	196a	Globosa-Subglobosa	12.6a	0-60-100-10	1	Si
S5	123dc	131ed	Globosa-Subglobosa	10.8ba	0-10-60-0	1	Si
S6	167ba	170ba	Globosa-Subglobosa	9.4bac	0-10-90-5	1	Si
S7	108d	112e	Globosa-Subglobosa	7c	0-0-40-0	1	Si
S9	183a	172ba	Globosa-Subglobosa	9.5bac	0-50-60-0	1	Si
S10	170ba	173ba	Globosa-Subglobosa	12.8a	0-20-60-0	1	Si
S11	152bac	156bdc	Globosa-Subglobosa	9.4bac	0-10-90-5	1	Si
C2	145bdac	155bdc	Globosa-Subglobosa	8bc	0-50-60-0	1	Si
C5	158bac	166bac	Globosa-Subglobosa	9bc	0-20-60-0	1	Si

*0-50-60-0= reddish-orange, 0-20-60-0= red-brown, 0-10-90-5= orange, 0-60-100-10= orange- brown, 0-10-60-0= pale orange-yellow, 0-0-40-0= pale yellow (INVAM, 2014). Promedios con la misma letra indican diferencia no significativa (Tukey $p \leq 0.05$).

De acuerdo al análisis estadístico en diámetro ecuatorial el aislado S9 es significativamente diferente con una media de 183a de acuerdo a la agrupación de medias (Tukey $p \leq 0.05$) seguido de S10 con una media de 170ba; en lo que respecta a diámetro meridional el aislado S4 presentó diferencia significativa con una media de 196a seguido de S10 con una media de 173ba. El aislado S7 presenta el menor diámetro tanto ecuatorial como meridional con una media de 108d-112e respectivamente. El espesor de la pared esporal de acuerdo a análisis estadístico y la prueba de comparación

Ramirez, 2004). The real relationship whether strong or weak (Hijri *et al.*, 2006) between soil properties and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi species under field conditions is little known (Carvalho *et al.*, 2003).

Morphological analysis of mycorrhizal isolated in wheat (*Triticum aestivum* L.)

The resulting spore from isolates have a globular- sub globular shape, the equatorial diameter (DE) of isolates from wild and cultivated system range from 108 μm - 170 μm and meridional diameter (DM) from 112 μm - 196 μm , the thickness of its spore wall (EPE) is 7 μm - 12.8 μm , the spore colors of the different isolates were: 0-60-100-10 (orange-brown), 0-10-60-0 (pale orange-yellow), 0-10-90-5 (orange), 0-0-40-0 (pale yellow),

0-50-60-0 (reddish-orange), 0-20-60-0 (red-brown), the number of layers of the spore is 1 on its majority except morphotype S1 which had two spore layers, all morphotypes has gallbladder and arbuscule (Table 4).

According to statistical analysis in equatorial diameter the S9 isolate is significantly different with a mean 183a according to the mean group (Tukey $p \leq 0.05$) followed by S10 with a mean of 170ba; regarding to the meridional diameter isolated S4 showed significant difference with a mean of 196a

de medias (Tukey $p \leq 0.05$) el aislado S4 y S10 nos son estadísticamente diferentes pero numéricamente su diámetro difiere siendo mayor S10 con una media de 12.8a seguido de S4 con 12.6a, el aislado S7 presenta menor espesor de la pared esporal con una media de 7c.

Se aprecia que las características morfológicas de los aislados difieren de su sistema natural tanto del cultivado como silvestre, como se ha mencionado anteriormente algunas especies forman más de un morfotipo de esporas Stockinger *et al.* (2009). Recientemente Ehinger *et al.* (2009) estudiaron genéticamente distintos individuos de *G. intraradices* aislados del mismo campo y encontraron que los aislados mostraron diferentes estrategias de crecimiento dependiendo del hospedero y diferentes niveles de fósforo, esto significa que la disponibilidad de fosfato afecta el genotipo de un hongo formador de micorriza arbuscular aislado a través de múltiples generaciones.

Dinámicas similares han sido encontradas por Oliveira *et al.* (2010) trabajando con aislados de *Glomus geosporum* durante un año en dos suelos con diferentes pH (ácido-alkalino), estos estudios han demostrado que los linajes resultantes de hongos micorrícicos arbusculares comparten un tercio de sus marcadores genéticos lo que significa que cuando se cultivan bajo las mismas condiciones la densidad de micelio y de esporas difieren significativamente. Situación que pudo ser diferente en los caracteres morfológicos de los aislados de micorrizas nativas ya que se modificó su ambiente natural sometidos a solución nutritiva Steiner modificada a 20% en fósforo y pH de 7.5- 8 y en sustrato tipo arena bajo condiciones controladas.

Potencial de inóculo de aislados de micorrizas en trigo (*Triticum aestivum* L.)

De 21 morfotipos que se obtuvieron del sistema silvestre y 12 de cultivado no todos establecieron simbiosis exitosa en plantas de trigo (Figura 2). De las cuales 10 morfotipos pertenecen al sistema silvestre (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S10 y S11) y 2 (C2 y C5) al sistema cultivado.

De acuerdo al análisis estadístico, el aislado S1 es significativamente diferente con un 57.81 a de acuerdo a la agrupación de medias (Tukey $p \leq 0.05$), seguido de C2 con una media de 47.2ba, el aislado S11 fue quien estableció menor simbiosis en raíz de trigo con una media de 27.16c. Los aislados C1, C2, C3, C4, C6, C7, C8, C9 de sistema cultivado y S8, S12 del sistema silvestre no establecieron

seguido por S10 con una media de 173ba. El aislado S7 mostró el menor diámetro tanto ecuatorial como meridional promediando 108d-112e respectivamente. El espesor de la pared esporal de acuerdo al análisis estadístico y prueba de comparación de medias (Tukey $p \leq 0.05$) el aislado S4 y S10 no son estadísticamente diferentes pero numéricamente su diámetro difiere siendo mayor S10 con un promedio de 12.8a seguido por S4 con 12.6a, el aislado S7 muestra menor espesor de la pared esporal promediando 7c.

Se aprecia que las características morfológicas de los aislados difieren de su sistema natural tanto del cultivado como silvestre, como se ha mencionado anteriormente algunas especies forman más de un morfotipo de esporas Stockinger *et al.* (2009). Recientemente Ehinger *et al.* (2009) estudiaron genéticamente distintos individuos de *G. intraradices* aislados del mismo campo y encontraron que los aislados mostraron diferentes estrategias de crecimiento dependiendo del hospedero y diferentes niveles de fósforo, esto significa que la disponibilidad de fosfato afecta el genotipo de un hongo formador de micorriza arbuscular aislado a través de múltiples generaciones.

Dinámicas similares han sido encontradas por Oliveira *et al.* (2010) trabajando con aislados de *Glomus geosporum* durante un año en dos suelos con diferentes pH (ácido-alkalino), estos estudios han demostrado que los linajes resultantes de hongos micorrícicos arbusculares comparten un tercio de sus marcadores genéticos lo que significa que cuando se cultivan bajo las mismas condiciones la densidad de micelio y de esporas difieren significativamente. Situación que pudo ser diferente en los caracteres morfológicos de los aislados de micorrizas nativas ya que se modificó su ambiente natural sometidos a solución nutritiva Steiner modificada a 20% en fósforo y pH de 7.5- 8 y en sustrato tipo arena bajo condiciones controladas.

Inóculo potencial de aislados de micorrizas en trigo (*Triticum aestivum* L.)

De 21 morfotipos que se obtuvieron del sistema silvestre y 12 de cultivado no todos establecieron simbiosis exitosa en plantas de trigo (Figura 2). De las cuales 10 morfotipos pertenecen al sistema silvestre (S1, S2, S3, S4, S5, S6, S7, S9, S10 y S11) y 2 (C2 y C5) al sistema cultivado.

De acuerdo al análisis estadístico, el aislado S1 es significativamente diferente con un 57.81 a de acuerdo a la agrupación de medias (Tukey $p \leq 0.05$); seguido por C2 con una media de 47.2ba, el aislado S11 fue quien estableció menor simbiosis en raíz de trigo con una media de 27.16c. Los aislados C1, C2, C3, C4, C6, C7, C8 y C9 del sistema cultivado y S8, S12 del sistema silvestre no establecieron

simbiosis en plantas de trigo por lo que no son considerados con potencial de inóculo en la presente investigación. En este estudio se puede decir que las características de forma, diámetro, espesor de la pared esporal no son indicadores de hongos micorrícicos con potencial de inóculo. Se ha demostrado que existe una especificidad estricta entre hospedero y hongo micorrícico arbuscular el resultado de las interacciones depende de su hospedero y condiciones ambientales (Walder *et al.*, 2012; Smith y Smith, 2015). El trigo es un cultivo que no depende en gran medida de la asociación con hongos micorrícicos arbusculares para obtener nutrientes, pero existen estudios que demuestran que las plantas de trigo se benefician al establecer simbiosis (Manske, 1990; Tawaraya, 2003).

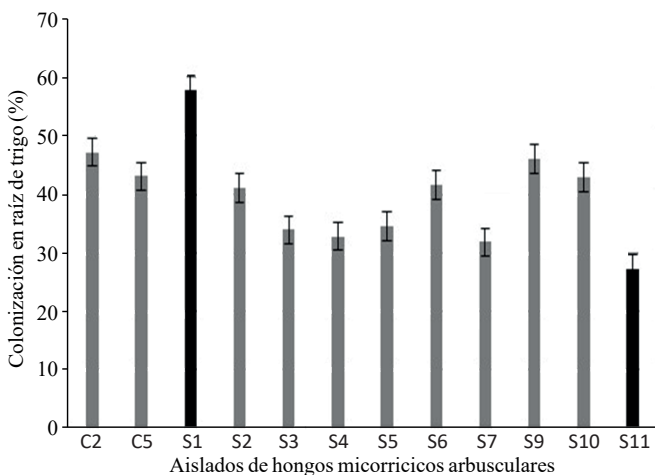


Figura 2. Colonización de aislados de hongos micorrícicos en raíz de trigo (*Triticum aestivum* L.) 8 meses después de la inoculación.

Figure 2. Colonization of mycorrhizal fungi isolated in root wheat (*Triticum aestivum* L.) 8 months after inoculation.

En la Figura 3 se muestran características morfológicas de aislados que establecieron simbiosis exitosa en trigo (*Triticum aestivum* L.) y que son considerados con potencial de inóculo.

Conclusiones

La diversidad morfológica de hongos micorrícicos arbusculares asociados en la rizósfera de tomatillo de un sistema silvestre es mayor en comparación a la rizosfera de tomatillo (variedad rendidora) de un sistema agrícola intensivo, esto fue debido a la disponibilidad de nutrientes, labores culturales nulas en el sistema silvestre y manejo intensivo en el sistema cultivado.

not considered as potential inoculum in this research. In this study it can be said that shape, diameter and wall thickness characteristics are not indicators of mycorrhizal fungi with inoculum potential. It has been shown that there is a strict specificity between host and arbuscular mycorrhizal fungi, the result of the interactions dependent on its host and environmental conditions (Walder *et al.*, 2012; Smith and Smith, 2015). Wheat is a crop that does not depend heavily on the association with arbuscular mycorrhizal fungi to obtain nutrients, but there are studies showing that wheat plants benefit in establishing symbiosis (Manske, 1990; Tawaraya, 2003).

Figure 3 shows morphological characteristics from isolates that established successful symbiosis in wheat (*Triticum aestivum* L.), which are considered as potential inoculum.

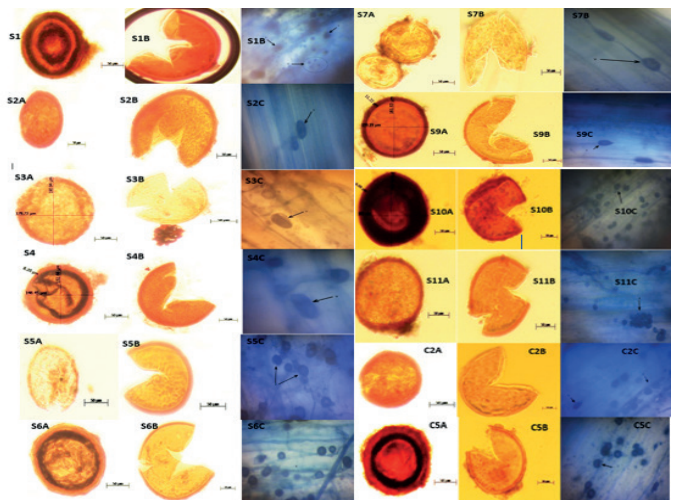


Figura 3. Caracteres morfológicos de aislados de hongos micorrícicos arbusculares con potencial de inóculo en trigo. S1A, S1B, S1C, S2A, S2B, S2C, S3A, S3B, S3C, S4A, S4B, S4C, S5A, S5B, S5C, S6A, S6B, S6C, S7A, S7B, S7C, S9A, S9B, S9C, S10A, S10B, S10C, S11A, S11B y S11C son morfotipos del sistema silvestre; C2A, C2B, C2C y C5A, C5B, C5C son morfotipos del sistema cultivado donde (A) espóra completa, (B) espóra fraccionada y (C) colonización en raíz respectivamente.

Figure 3. Morphological characters isolated arbuscular mycorrhizal fungi inoculum potential in wheat. S1A, S1B, S1C, S2A, S2B, S2C, S3A, S3B, S3C, S4A, S4B, S4C, S5A, S5B, S5C, S6A, S6B, S6C, S7A, S7B, S7C, S9A, S9B, S9C, S10A, S10B, S10C, S11A, S11B and S11C are wild morphotypes system; C2A, C2B, C2C and C5A, C5B, C5C are cultivated morphotypes of the system where (A) spore complete; (B) fractional spore; and (C) in root colonization respectively.

La morfología esporal de los hongos micorrícicos arbusculares difiere de acuerdo a las condiciones en las que se establezcan.

Los morfotipos aislados en plantas de trigo del sistema silvestre presentaron mayor potencial de inóculo debido a que de 12 morfotipos inoculados 10 establecieron simbiosis exitosa sobresaliendo el aislado S1 con mayor porcentaje de colonización siendo que los morfotipos aislados del sistema cultivado de nueve morfotipos inoculados solo dos establecieron simbiosis exitosa.

Agradecimientos

A fondos CONACYT y a la UAAAN instituciones que financiaron el presente proyecto.

Literatura citada

- Bornemisza, E. 1979. Organic carbon determination by the Walkley-Black and dry combustion in surface soils and andepts profiles from Costa Rica. *Soil Sci.* 43:78-83.
- Bouyoucos, G. S. 1936. Directions for making mechanical analysis of soil by hydrometer method. *Soil Sci.* 4:225-228.
- Bremner, J. M. 1960. Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method. *J. Agric. Sci.* 55:11-33.
- Brundrett, M. C. 1991. Mycorrhizas in natural ecosystems. *In: Macfayden, A.; Begon, M.; Fitter, A. H. (Eds.). Advances in ecological research, London, UK: Academic Press.* 21:171-313.
- Brussaard, L.; Ruiters, P. C. and Brown, G. G. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agric. Ecosyst. Environ.* 121:233-244.
- Burdon, J. J. and Thrall, P. H. 2008. Pathogen evolution across the agro-ecological interface: implications for disease management. *Evol. Appl.* 1:57-65.
- Cardinale, B. J.; Wrigh, J. P.; Cadotte, M. W.; Carroll, I. T.; Hector, A.; Srivastava, D. S. and Loreau, M. 2007. Impacts of plant diversity on biomass production increase through time because of species complementarity. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 104:18123-18128.
- Carvalho, L. M.; Correia, P. M.; Rye, R. J. and Martins-Loução, M. A. 2003. Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal spores in two natural plant communities. *Plant Soil.* 251:227-236.
- Egerton-Warburton, L. M.; Johnson, and Allen, E. B. 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol. Monographs.* 77:527-544.
- Ehinger, M.; Koch, A. and Sanders, I. 2009. Changes in arbuscular mycorrhizal fungal phenotypes and genotypes in response to plant species identity and phosphorus concentration. *New Phytologist.* 184:412-423.

Conclusions

The morphological diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated in the rhizosphere of tomatillo of a wild system is higher compared to the rhizosphere of tomatillo (rendidora variety) from an intensive agricultural system; this was due to the availability of nutrients, null cultural practices in the wild system and intensive management in cultivated system.

Spore morphology of arbuscular mycorrhizal fungi differs according to the conditions in which these are established.

Morphotypes isolated in wheat plants from wild system had higher inoculum potential because the 12 morphotypes inoculated, 10 established successful symbiosis excelling isolate S1 with the highest percentage of colonization being the morphotypes isolated from cultivated system of nine inoculated morphotypes just two established successful symbiosis.

End of the English version



- Furlan, V.; Bärtschi, H. and Fortin, J. A. 1980. Media for density gradient extraction of endomycorrhizal spores. *Trans Br Mycol Soc.* 75:336-338.
- Gerderman, J. and Nicholson, T. 1963. Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *J. BMS.* 46:235-244.
- Hijri, I.; Sykora, Z.; Oehl, F.; Ineichen, K.; Mäder, P.; Wiemken, A. and Redecker, D. 2006. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi in arable soils are not necessarily low in diversity. *Mol Ecol.* 15:2277-2289.
- Hodge, A. and Storer, K. 2015. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil.* 386:1-19.
- Horn, K.; Hahn, A.; Pausch, P. and Hock, B. 1992. Isolation of pure spore and hyphal fractions from vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *J. Plant Physiol.* 141:28-32.
- INVAM (International culture collection of VA mycorrhizal fungi). 2014. <http://invam.wvu.edu/the-fungi/species-descriptions>.
- Rockström, J.; Steffen, W.; Noone, K.; Persson, Å.; Stuart, F.; Chapin, III.; Lambin, E. F.; Lenton, T. M.; Scheffer, V.; Folke, C.; Schellnhuber, H. J.; Nykvist, B.; Wit, C. A.; Hughes, T.; Van-Deer, S.; Leeuw, F.; Rodhe, H.; Sörlin, S.; Snyder, P. K.; Costanza, R.; Svedin, U.; Falkenmark, M.; Karlberg, L.; Corell, R. W.; Fabry, W. J.; Hansen, J.; Walker, Liverman, D.; Richardson, K.; Crutzen, P. and Foley, J. A. 2009. A safe operating space for humanity. *Nature.* 461:472-475.
- Kahiluoto, H.; Ketoja, E. and Vestberg, M. 2009. Contribution of arbuscular mycorrhiza to soil quality in contrasting cropping systems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 134:36-45.

- Mäder, P.; Fließbach, A.; Dubois, D.; Gunst, L.; Fried, P. and Niggli, U. 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science*. 296:1694-1697.
- Manske, G. G. B. 1990. Genetical analysis of the efficiency of V A mycorrhiza with spring wheat. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29:273-280.
- McGonigle, T. P.; Miller, M. H.; Evans, D. G.; Fairchild, G. L. and Swan, J. A. 1990. A new method that gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115:495-501.
- Moonen, A. C. and Bàrberi, P. 2008. Functional biodiversity: an agroecosystem approach. *Agric. Ecosyst. Environ.* 127:7-21.
- Oehl, F.; Sieverding, E.; Ineichen K.; Mader, P.; Wiemken, A. and Boller, T. 2009. Distinct sporulation dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities from different agroecosystems in long-term microcosms. *Agric. Ecosyst. Environ.* 134:257-268.
- Oehl, F.; Sieverding, V.; Ineichen, K.; Mäder, P.; Boller, T. and Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:2816-2824.
- Oliveira, R. S.; Boyer, L. R.; Carvalho, M. F.; Jeffries, P.; Vosatka, M.; Castro, P. M. L. and Dodd, J. C. 2010. Genetic, phenotypic and functional variation within a *Glomus geosporum* isolate cultivated with or without the stress of a highly alkaline anthropogenic sediment. *Appl. Soil Ecol.* 45:39-48.
- Olsen, S. R.; Cole, C. V.; Watanabe, F. S. and Dean, L. A. 1954. Estimation of available phosphorus in soils by extraction with sodium bicarbonate. U. S. Department of Agriculture Circular 939.
- Banderis, A. D.; Barter, D. H. and Anderson, K. *Agricultural and Advisor.* 344-348.
- Philippot, L.; Raijmakers, J. M.; Lemanceau, P.; and Van-Der, P. W. H. 2013. Going back to the roots: the microbial ecology of the rhizosphere. *Nature Rev. Microbiol.* 11:789-799.
- Pozo, M. J.; Cordier, C.; Dumas-Gaudot, E.; Gianinazzi, S.; Barea, J. M. and Azcón-Aguilar, C. 2002. Localized versus systemic effect of arbuscular mycorrhizal fungi on defence responses to *Phytophthora* infection in tomato plants. *J. Exp. Bot.* 53:525-534.
- Redecker, D.; Morton, J. B. and Bruns, T. D. 2000. Molecular phylogeny of the arbuscular mycorrhizal fungi *Glomus sinuosum* and *Sclerocystis coremioides*. *Mycologia.* 92:282-285.
- Schüßler, A.; Schwarzott, D. and Walker, C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycological Res.* 105:1413-1421.
- Serralde, A. M. y Ramírez, M. 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica. Ciencia y Tecnología Agropecuaria.* 5(1):31-40.
- Shennan, C. 2008. Biotic interactions, ecological knowledge and agriculture *Philosophical Transactions of the Royal Society B-Biological Sciences.* 363:717-739.
- Smith, F. A. and Smith, S. E. 2015. How harmonious are arbuscular mycorrhizal symbioses? Inconsistent concepts reflect different mindsets as well as results. *New Phytol.* 205:1381-1384.
- Steiner, A. A. 1973. The selective capacity of tomato plants for ions in a nutrient solution. In: *Proceedings 3rd International Congress on Soils Culture.* Wageningen. The Netherlands. 43-53 pp.
- Stockinger, H.; Walker, C. and Schüßler, A. 2009. '*Glomus intraradices* DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytologist.* (183):1176-118.
- Tawaray, K. 2003. Arbuscular mycorrhizal dependency of different plant species and cultivars. *Soil Sci. Plant Nutrit.* 49:655-668.
- Thomson, B. D.; Robson, A. D. and Abbott, L. K. 1992. The effect of long-term applications of phosphorus-fertilizer on populations of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pastures. *Aust. J. Agric. Res.* 43:1131-1142.
- Thomson, B. D.; Robson, A. D. and Abbott, L. K. 1992. The effect of long-term applications of phosphorus-fertilizer on populations of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in pastures. *Aust. J. Agric. Res.* 43:1131-1142.
- Tilman, D.; Wedin, D. and Knops, J. 1996. Productivity and sustainability influenced by biodiversity in grassland ecosystems. *Nature.* 379:718-720.
- Toljander, J. F.; Santos-Gonzalez, J. C.; Tehler, A. and Finlay, R. D. 2008. Community analysis of arbuscular mycorrhizal fungi and bacteria in the maize mycorrhizosphere in a long-term fertilization trial. *FEMS Microbiology Ecology.* 65:323-338.
- UNU, 2011. World population prospects: the 2010 Revision, standard variants. 2011. <http://esa.un.org/wpp/Excel-Data/population.htm>.
- Van-D.; Heijden, M. G. A.; Bardgett, R. D. and Van-Straalen, N. M. 2008. The unseen majority: soil microbes as drivers of plant diversity and productivity in terrestrial ecosystems. *Ecology letters.* 11(3):296-310.
- Vandenkoornhuyse, P.; Husband, R.; Daniell, T. J.; Watson, I. J.; Duck, J. M.; Fitter, A. H. and Young, J. P. W. 2002. Arbuscular mycorrhizal community composition associated with two plant species in a grassland ecosystem. *Molecular Ecology.* 11:1555-1564.
- Vandenkoornhuyse, P.; Ridgway, K. P.; Watson, I. J.; Fitter, A. H. and Young, J. P. W. 2003. Co-existing grass species have distinctive arbuscular mycorrhizal communities. *Mol. Ecol.* 129:3085-3095.
- Walder, F.; Niemann, H.; Natarajan, M.; Lehmann, M. F.; Boller, T. and Wiemken, A. 2012. Mycorrhizal networks: common goods of plants shared under unequal terms of trade. *Plant Physiol.* 159:789-797.
- Walker, C. 2005. A simple blue staining technique for arbuscular mycorrhizal and other root-inhabiting fungi. *Inoculum.* 56:68-69.