

HONGOS MICORRIZÓGENOS ARBUSCULARES Y NUTRIMENTOS DEL SUELO ASOCIADOS A CUATRO ESPECIES DE HELECHOS EN DOS ECOSISTEMAS DE OAXACA, MÉXICO

ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI AND SOIL NUTRIENTS ASSOCIATED WITH FOUR FERN SPECIES IN TWO ECOSYSTEMS IN OAXACA, MEXICO

Ana A. Bautista-Cruz; Noé M. Montaña; Sara L. Camargo-Ricalde; Leticia Pacheco*

Departamento de Biología, División de Ciencias Biológicas y de la Salud, Universidad Autónoma Metropolitana. Unidad Iztapalapa, Av. San Rafael Atlixco núm.186, col. Vicentina. C. P. 09340.

Del. Iztapalapa, D. F. MÉXICO.

Correo-e: pacheco@xanum.uam.mx Tel.: 55 58044690 (*Autora para correspondencia).

RESUMEN

La abundancia y riqueza de hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), así como la micorriza arbuscular (MA) en las raíces de cuatro especies de helechos (*Cheilanthes myriophylla*, *Ch. bonariensis*, *Blechnum appendiculatum* y *Adiantum capillus-veneris*) se evaluaron en relación con la fertilidad del suelo durante febrero y diciembre. Los helechos se evaluaron en dos ecosistemas de Oaxaca, México: *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis* en el matorral xerófilo semiárido, y *B. appendiculatum* y *A. capillus-veneris* en el bosque mesófilo de montaña. El suelo rizosférico de las cuatro especies tuvo mayor abundancia y riqueza de esporas de HMA que el suelo sin helechos. En total se registraron 13 géneros y 32 morfoespecies de HMA. Las morfoespecies de *Glomus* se detectaron en ambos ecosistemas, mientras que *Racocetra*, *Scutellospora*, *Diversispora* y *Gigaspora* fueron exclusivas del bosque mesófilo. La baja micorrización arbuscular se atribuyó a los altos niveles de materia orgánica, N total y P inorgánico; la MA fue más activa en *Ch. bonariensis*, especie del matorral xerófilo, lo cual sugiere que la MA es regulada por la disponibilidad de recursos y la identidad del helecho. Las cuatro especies forman reservorios de HMA, lo que indica que los helechos podrían generar inóculos nativos útiles para la restauración ambiental de sus ecosistemas.

PALABRAS CLAVE: Ecología del suelo, interacciones, Pteridofitas, micorriza.

ABSTRACT

The abundance and richness of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) and arbuscular mycorrhizae (AMs) in the roots of four fern species (*Cheilanthes myriophylla*, *Ch. bonariensis*, *Blechnum appendiculatum* and *Adiantum capillus-veneris*) were examined in relation to soil fertility in February and December. The ferns were evaluated in two ecosystems in Oaxaca, Mexico: *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis* in semiarid tropical scrub, and *B. appendiculatum* and *A. capillus-veneris* in cloud forest. The rhizospheric soil of the four fern species had higher AMF spore abundance and richness than fern-free soil. A total of 13 genera and 32 morphospecies of AMF were recorded. *Glomus* morphospecies were detected in both ecosystems, whereas *Racocetra*, *Scutellospora*, *Diversispora*, *Gigaspora* and some morphospecies of *Acaulospora* and *Funneliformis* were unique to the cloud forest. The low arbuscular mycorrhization in the ferns was attributed to the high levels of organic matter, total N and inorganic P; AMs were more active in *Ch. bonariensis*, a semiarid tropical scrub species, suggesting that AMs are regulated by the availability of soil resources and the type of fern. The four species form reservoirs of AMF in the soil, suggesting that the ferns could generate native inocula useful for environmental restoration in their respective ecosystems.

KEYWORDS: Soil ecology, interactions, Pteridophytes, mycorrhiza.



Recibido: 19 de febrero, 2014
Aceptado: 25 de septiembre, 2014
doi: 10.5154/r.rchscfa.2014.02.007
<http://www.chapingo.mx/revistas>

INTRODUCCIÓN

Los hongos micorrícicos arbusculares (HMA; phylum Glomeromycota) se asocian con las raíces de las plantas formando la micorriza arbuscular (MA) para obtener fotosintatos y completar su ciclo de vida; al mismo tiempo, los HMA permiten a las plantas una mejor captación de agua y nutrientes (v. g. fósforo) del suelo. Alrededor de 80 a 90 % de las plantas terrestres, entre éstas los helechos, forman la MA (Wang & Qiu, 2006); sin embargo, dicha asociación sólo ha sido reportada en 10 % de las 15,000 especies de helechos en el mundo (Kessler, Jonas, Strasberg, & Lehnert, 2010). Hasta el 2006 se había reportado que 52 % de 387 especies de helechos establecen asociación micorrícica (Wang & Qiu, 2006). Desde entonces, la MA ha sido detectada en otras 390 especies de helechos en América (Fernández, Fontenla, & Messuti, 2010; Lehnert et al., 2009; Reyes-Jaramillo, Camargo-Ricalde, & Aquihuatl-Ramos, 2008), La Réunion, Francia (Kessler et al., 2010), India (Muthukumar & Prabha, 2013) y Sudáfrica (Turnau, Anielska, & Jurkiewicz, 2005), lo cuales sugieren que la MA en helechos depende del contexto ambiental (i. e. disponibilidad de recursos y diversidad vegetal) de cada ecosistema.

El estado micorrícico de los helechos no se ha vinculado con la fertilidad del suelo. Kessler et al. (2010) señalaron que la MA beneficia a los helechos con la absorción de fósforo, un elemento que en cantidades escasas limita el desarrollo vegetal (Jansa, Finlay, Wallander, & Smith, 2011). Así, además de las adecuaciones fenotípicas de los helechos para establecerse en ambientes húmedos y secos, la asociación con los HMA también podría explicar el éxito colonizando suelos de reciente formación (Kessler et al. 2010) y de sitios perturbados (Mehltreter, 2010), por lo que comprender dicha asociación ayudaría a seleccionar especies de helechos útiles para la restauración ambiental (Walker & Sharpe, 2010).

En México, la MA en helechos se ha evaluado en ambientes controlados (Reyes-Jaramillo et al., 2008), pero no en condiciones de campo (Montaño et al., 2012), a pesar de las 1,008 especies (Mickel & Smith, 2004) que constituyen 3.5 % de la diversidad vegetal del país. Tal como ocurre en otros taxa vegetales (Camargo-Ricalde & Dhillion, 2003), los helechos, por sus diferentes adaptaciones, podrían favorecer la abundancia y riqueza de HMA en el suelo de su rizósfera, bajo ambientes específicos. En Oaxaca, uno de los estados con mayor diversidad vegetal, se han citado 112 géneros y 627 especies de helechos y licofitas (Tejero & Mickel, 2004); sin embargo, aún es imperativo analizar la asociación con los HMA y discernir cómo los recursos edáficos regulan la MA en los taxa de helechos.

Por lo tanto, los objetivos de este estudio fueron: i) Evaluar la abundancia de esporas y la riqueza de HMA en el suelo de la rizósfera de *Cheilanthes myriophylla* Desv., *Ch. bonariensis* (Willd.) Proctor., *Blechnum appendiculatum* Willd. y *Adiantum capillus-veneris* L., ii) cuantificar la MA en estas

INTRODUCTION

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF, phylum Glomeromycota) are associated with plant roots forming arbuscular mycorrhizae (AMs) to obtain photosynthates and complete their life cycle; at the same time, AMF provide plants with better uptake of water and nutrients (i.e. phosphorus) from the soil. About 80 to 90 % of land plants, including ferns, form AMs (Wang & Qiu, 2006); however, this association has only been reported in 10 % of the 15,000 fern species in the world (Kessler, Jonas, Strasberg, & Lehnert, 2010). Until 2006 it had been reported that 52 % of 387 fern species establish mycorrhizal association (Wang & Qiu, 2006). Since then, AMs have been detected in another 390 fern species in the Americas (Fernández, Fontela, & Messuti, 2010; Lehnert et al., 2009; Reyes-Jaramillo, Camargo-Ricalde, & Aquihuatl-Ramos, 2008), La Réunion, France (Kessler et al., 2010), India (Muthukumar & Prabha, 2013) and South Africa (Turnau, Anielska, & Jurkiewicz, 2005), suggesting that AMs in ferns depend on the environmental context (i.e. resource availability and plant diversity) of each ecosystem.

The mycorrhizal status of ferns is not linked to soil fertility. Kessler et al. (2010) noted that AMs benefit ferns with the absorption of phosphorus, an element that in insufficient quantities limits plant growth (Jansa, Finlay, Wallander, & Smith, 2011). Thus, in addition to the phenotypic adaptations of ferns to establish themselves in wet and dry environments, the association with AMF could also explain their success in colonizing newly-formed soils (Kessler et al., 2010) and those in disturbed sites (Mehltreter, 2010), so understanding this association would help to select fern species useful for environmental restoration (Walker & Sharpe, 2010).

In Mexico, AMs in ferns have been evaluated in controlled environments (Reyes-Jaramillo et al., 2008), but not under field conditions (Montaño et al., 2012), despite the 1,008 species (Mickel & Smith, 2004) that account for 3.5 % of Mexico's plant diversity. As occurs in other plant taxa (Camargo-Ricalde & Dhillion, 2003), ferns, due to their different adaptations, could favor AMF abundance and richness in their rhizospheric soil under specific environments. In Oaxaca, one of the states with the highest plant diversity, 112 genera and 627 species of ferns and lycophytes have been cited (Tejero & Mickel, 2004); however, it is still imperative to analyze the association with AMF and discern how soil resources regulate AMs in fern taxa.

Therefore, the objectives of this study were: i) assess AMF spore abundance and richness in the rhizospheric soil of *Cheilanthes myriophylla* Desv. and *Ch. bonariensis* (Willd.) Proctor. in semiarid tropical scrub, and *Blechnum appendiculatum* Willd. and *Adiantum capillus-veneris* L. in cloud forest, ii) quantify the AMs in these four species and iii) relate the AMs and soil resources in two dates (February and December) and in two contrasting ecosystems (semiarid tropi-

cuatro especies y iii) relacionar la MA y los recursos del suelo, en dos fechas (febrero y diciembre), en dos ecosistemas contrastantes (matorral xerófilo semiárido y bosque mesófilo de montaña) de Oaxaca, México. La hipótesis fue que las cuatro especies de helechos forman MA y favorecen la abundancia y riqueza de HMA, pero que esto varía con la especie y los recursos edáficos de cada ecosistema.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ecosistemas de estudio

Este estudio se realizó en dos ecosistemas contrastantes de México: i) Matorral xerófilo semiárido y ii) Bosque mesófilo de montaña. El matorral se localiza al noroeste de Oaxaca, en el municipio de San Pedro y San Pablo Tequixtepec, entre los 18° 01' 32" N y 97° 41' 37" O, a una altitud de 1,835 m. El clima es semicálido subhúmedo con lluvias en verano; la temperatura media es de 20 °C y la precipitación promedio anual de 747 mm; el suelo es de tipo Regosol derivado de roca basáltica (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática [INEGI], 2011). El bosque mesófilo de montaña se localiza al norte del estado, en el municipio de San Pedro Ocopetatlillo a 1,760 m de altitud, entre los 18° 10' 46" N y 96° 54' 3" O. Este ecosistema tiene clima templado húmedo con lluvias en verano; la temperatura media es de 25 °C y la precipitación promedio anual de 2,266 mm; el suelo es de tipo Cambisol derivado de roca sedimentaria (INEGI, 2011).

Selección de las especies de helechos y muestreo de suelo y raíces

Las especies de helechos fueron elegidas por su amplia distribución y abundancia en México (Mickel & Smith, 2004), en particular, en el estado de Oaxaca (Tejero & Mickel, 2004). En el matorral xerófilo y en el bosque mesófilo, el muestreo se hizo en diciembre de 2010 y febrero de 2011 para captar la variabilidad temporal. En cada ecosistema se realizaron dos transectos de 100 m de longitud en los que se localizaron a las especies de manera individual o formando colonias (dos a seis individuos). En los transectos se eligieron sistemáticamente cinco individuos por especie, con una separación mínima de 30 m entre cada uno, por lo que se consideraron réplicas independientes. Los individuos seleccionados tuvieron cobertura y tamaño similares, lo que redujo el efecto asociado a diferencias en su crecimiento. En el matorral se seleccionaron dos especies de helechos: *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis* (Pteridaceae), y en el bosque: *B. appendiculatum* (Blechnaceae) y *A. capillus-veneris* (Pteridaceae). Los ejemplares de cada especie fueron identificados (Mickel & Smith, 2004) y depositados en el Herbario UAMIZ de la Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I).

Por cada individuo se recolectó una muestra de 300 g de suelo rizosférico (profundidad de 15 cm), dando un total de cinco muestras por especie. Asimismo, se recolectaron

cal scrub and cloud forest) in Oaxaca, Mexico. The hypothesis was that the four fern species form AMs and favor AMF abundance and richness, but that this varies with the species and soil resources of each ecosystem.

MATERIALS AND METHODS

Study ecosystems

This study was conducted in two contrasting ecosystems in Mexico: i) semiarid tropical scrub and ii) cloud forest. The scrub is located in northwestern Oaxaca, in the municipality of San Pedro and San Pablo Tequixtepec, between 18° 01' 32" N and 97° 41' 37" W, at an elevation of 1,835 m. The climate is semi-warm subhumid with summer rains; the average temperature is 20 °C and average annual precipitation is 747 mm; the Regosol-type soil is derived from basaltic rock (Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática [INEGI], 2011). The cloud forest is located in the north of the state, in the municipality of San Pedro Ocopetatlillo at 1,760 m above sea level, between 18° 10' 46" N and 96° 54' 3" W. This ecosystem has a temperate humid climate with summer rains; the average temperature is 25 °C and average annual rainfall is 2,266 mm; the Cambisol-type soil is derived from sedimentary rock (INEGI, 2011).

Selection of fern species and soil and root sampling

The fern species were selected for their wide distribution and abundance in Mexico (Mickel & Smith, 2004), particularly in the state of Oaxaca (Tejero & Mickel, 2004). In the tropical scrub and cloud forest, sampling was conducted in December 2010 and February 2011 to capture the temporal variability. In each ecosystem two 100-m-long transects in which the species were located individually or in colonies (two to six individuals) were laid out. In the transects, five individuals per species were systematically chosen, with a minimum separation of 30 m between each, making them independent replications. The selected individuals had similar cover and size, which reduced the effect associated with differences in their growth. In the scrub, two fern species were selected: *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis* (Pteridaceae), and in the forest: *B. appendiculatum* (Blechnaceae) and *A. capillus-veneris* (Pteridaceae). Specimens of each species were identified (Mickel & Smith, 2004) and deposited in the UAMIZ Herbarium at the Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa (UAM-I).

For each individual a 300-g sample of rhizospheric soil (15-cm depth) was collected, giving a total of five samples per species. Also, five soil samples were collected from fern-free areas in order to compare and detect the effect of the fern species on AMF. The fern-free areas selected were at least 10 m away from the selected individual. A total of 30 soil samples were collected and placed in black plastic bags. They were taken to the laboratory and stored under refrige-

cinco muestras de suelo en áreas sin helecho con la finalidad de comparar y detectar el efecto de las especies de helecho sobre los HMA. Las áreas sin presencia de helechos se eligieron a una distancia mínima de 10 m de separación a partir del individuo seleccionado. En total se obtuvieron 30 muestras de suelo que se colocaron en bolsas de plástico negras. Éstas se trasladaron al laboratorio y se almacenaron bajo refrigeración a 4 °C hasta su procesamiento. Asimismo se recolectaron raíces finas de cada individuo y se fijaron en alcohol (70 %) hasta que fueron examinadas en el laboratorio.

Extracción de esporas de HMA y tinción de raíces

Las esporas se extrajeron por tamizado húmedo y decantación (Gerdenmann & Nicolson, 1963), seguido de centrifugación en sacarosa al 50 % (Walker, 1997). Todas las esporas se contabilizaron para determinar la abundancia y se montaron sobre un portaobjetos con alcohol polivinílico en lactoglicerol (PVLG) y en PVLG más reactivo Melzer. Las esporas se identificaron a nivel de género o morfoespecie, con base en sus características morfológicas (Schenk & Pérez, 1990).

Las preparaciones permanentes están depositadas en el laboratorio de Biosistemática de Helechos y Licofitas de la UAM-I. Las muestras de raíces fueron teñidas con azul de tripano al 0.05 % (Phillips & Hayman, 1970), se fijaron con PVLG y se observaron al microscopio (Carl Zeiss, modelo 62223, Alemania) para cuantificar la colonización por hifas, vesículas y arbusculos (McGonigle, 1990).

Análisis químico y físico del suelo

Las muestras de suelo fueron secadas al aire y tamizadas con malla de 2 mm. El pH activo se midió con un potenciómetro (1:2.5 H₂O p/v). La humedad (%) se estimó mediante el método gravimétrico; se secó una submuestra de suelo a 75 °C por 72 h (peso constante). La materia orgánica (MO) del suelo se cuantificó mediante el procedimiento de Walkley y Black (1934). El carbono orgánico (CO) del suelo se estimó a partir de la MO usando el factor de conversión de 0.58 (Nelson & Sommers, 1996). El fósforo inorgánico (Pi) se extrajo con NaHCO₃ (pH = 8.5) y se determinó con el procedimiento de Olsen (Olsen, Cole, Watanabe, & Dean, 1954). El nitrógeno total (Nt) se determinó a través de una digestión ácida semi-microkjeldahl y titulación (Bremner & Mulvaney, 1982).

Análisis estadístico

Los datos de suelo se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) en el que se anidó a la especie en el ecosistema y a la fecha en ecosistema-especie. Cuando hubo efectos significativos, las medias se compararon con una prueba de Tukey DHS ($P \leq 0.05$). Los datos se transformaron a \log_{10} para ajustarlos a la distribución normal. Los datos de colonización micorrízica no se ajustaron, por lo que se analizaron con Kruskal-Wallis (H) y una prueba de medias por rangos ($P \leq 0.05$). La composi-

ción a 4 °C until processing. Fine roots of each individual were also collected and fixed in alcohol (70 %) until they were examined in the laboratory.

AMF spore extraction and root staining

Spores were removed by the wet sieving and decanting method (Gerdenmann & Nicolson, 1963), followed by centrifugation in 50 % sucrose (Walker, 1997). All spores were counted to determine abundance and mounted on a slide with polyvinyl alcohol lactoglycerol (PVLG) and in PVLG plus Melzer's reagent. The spores were identified to genus or morphospecies level, based on their morphological characteristics (Schenk & Pérez, 1990).

The permanent preparations are deposited in the UAM-I Biosystematics Laboratory of Ferns and Lycophytes. Root samples were stained with 0.05 % trypan blue (Phillips & Hayman, 1970), fixed with PVLG and observed under a microscope (Carl Zeiss, model 62223, Germany) to quantify colonization by hyphae, vesicles and arbuscules (McGonigle, 1990).

Chemical and physical soil analysis

Soil samples were air-dried and sieved with 2-mm mesh. Active pH was measured with a potentiometer (1:2.5 H₂O p/v). Moisture (%) was estimated by the gravimetric method; a subsample of the soil was dried at 75 °C for 72 hours (constant weight). The organic matter (OM) of the soil was measured by the Walkley and Black procedure (1934). The organic carbon (OC) of the soil was estimated from the OM using the conversion factor of 0.58 (Nelson & Sommers, 1996). Inorganic phosphorus (Pi) was extracted with NaHCO₃ (pH = 8.5) and determined with the Olsen procedure (Olsen, Cole, Watanabe, & Dean, 1954). Total nitrogen (Nt) was determined through a semi-micro Kjeldahl acid digestion and titration (Bremner & Mulvaney, 1982).

Statistical analysis

Soil data were subjected to an analysis of variance (ANOVA) in which the species was nested in the ecosystem and the date in the ecosystem-species. When there were significant effects, the means were compared with Tukey's HSD test ($P \leq 0.05$). Data were transformed to \log_{10} to fit the normal distribution. Mycorrhizal colonization data were not adjusted, so they were analyzed with Kruskal-Wallis (H) and a test of means by ranges ($P \leq 0.05$). The composition of AMF between ecosystems, species and dates was compared using the dissimilarity index by Euclidean distances (Magurran, 2004) based on presence-absence; the index is equal to zero when there is complete similarity. The relationship between mycorrhizal colonization in each species and soil properties by ecosystem-date was explored with canonical correspondence analysis (ter Braak, 1990). Analyses were performed using STATISTICA version 6.0 software (StatSoft Inc., 2000).

ción de HMA entre ecosistemas, especies y fechas se comparó utilizando el índice de disimilitud por distancias euclidianas (Magurran, 2004) basado en presencias-ausencias; el índice es igual a cero cuando hay completa similitud. La relación entre la colonización micorrícica en cada especie y las propiedades del suelo por ecosistema-fecha fue explorada con un análisis de correspondencia canónica (ter Braak, 1990). Los análisis se realizaron con el programa STATISTICA versión 6.0 (Statsoft Inc., 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Abundancia y riqueza de esporas de HMA

El Cuadro 1 muestra los HMA encontrados en los helechos estudiados. En dicho cuadro se observa que la abundancia de esporas de HMA fue mayor en el matorral xerófilo semiárido que en el bosque mesófilo de montaña. En el matorral, la abundancia disminuyó de diciembre a febrero; mientras que en el bosque, fue mayor en febrero. En ambos ecosistemas, la abundancia de esporas de HMA fue mayor en la rizósfera de los helechos que en las áreas con ausencia de éstos, tal como se esperaba. Los helechos *Ch. bonariensis* (matorral) y *B. appendiculatum* (bosque) tuvieron la más alta abundancia de esporas. En total se registraron 13 géneros y 32 morfoespecies de HMA (Cuadro 1); en el bosque se encontraron más morfoespecies que en el matorral. En el bosque se encontraron seis morfoespecies de *Acaulospora*, una de *Racocetra*, una de *Redeckera* y tres de *Scutellospora* que en el matorral no se hallaron; ambos ecosistemas difirieron 1.6 veces en la composición de los HMA. Asimismo, en los dos ecosistemas hubo más y diferentes morfoespecies de HMA en diciembre que en febrero (Cuadro 1; Figura 1). Los suelos de las áreas sin helechos tuvieron menos morfoespecies que el suelo rizosférico de los helechos. En el matorral, *Ch. myriophylla* tuvo menos morfoespecies que *Ch. bonariensis*, y en el bosque, *B. appendiculatum* tuvo más morfoespecies que *A. capillus-veneris*.

En los dos ecosistemas, el suelo de la rizósfera de los helechos es un reservorio de esporas y morfoespecies de HMA, en comparación con el suelo con ausencia de helechos. Esto puede deberse a que los helechos forman colonias y desarrollan rizomas, los cuales actúan como trampas de las esporas de HMA que son transportadas por erosión o dispersores bióticos desde otros microambientes; como ha sido documentado en otros taxones de plantas (Camargo-Ricalde & Dhillon, 2003). Es posible que las especies de helechos influyeran la multiplicación de los HMA en su rizósfera al formar la MA y modificar los recursos edáficos, lo que favoreció la esporulación (Smith & Read, 2008). La riqueza de morfoespecies de HMA (32) en las cuatro especies es mayor que las ocho reportadas en helechos de China (Zhang, Guo, & Liu, 2004), de las nueve morfoespecies en helechos de India (Muthukumar & Prabha, 2013) y de las 20 registradas en el matorral semiárido de Oaxaca, México (Carballar, Palma, Hernández, & Robles, 2012).

RESULTS AND DISCUSSION

Abundance and richness of AMF spores

Table 1 shows the AMF found in the ferns studied. This table shows that the abundance of AMF spores was higher in the semiarid tropical scrub than in the cloud forest. In the scrub, the abundance decreased from December to February, while in the forest it was higher in February. In both ecosystems, AMF spore abundance was higher in the rhizosphere of the ferns than in areas without them, as was expected. The ferns *Ch. bonariensis* (scrub) and *B. appendiculatum* (forest) had the highest spore abundance. A total of 13 genera and 32 morphospecies of AMF were recorded (Table 1); more morphospecies were found in the forest than in the scrub. In the forest, six morphospecies of *Acaulospora*, one of *Racocetra*, one of *Redeckera* and three of *Scutellospora* were found, but none of them were found in the scrub; the two ecosystems differed 1.6 times in AMF composition. Also, there were more and different AMF morphospecies in the two ecosystems in December than in February (Table

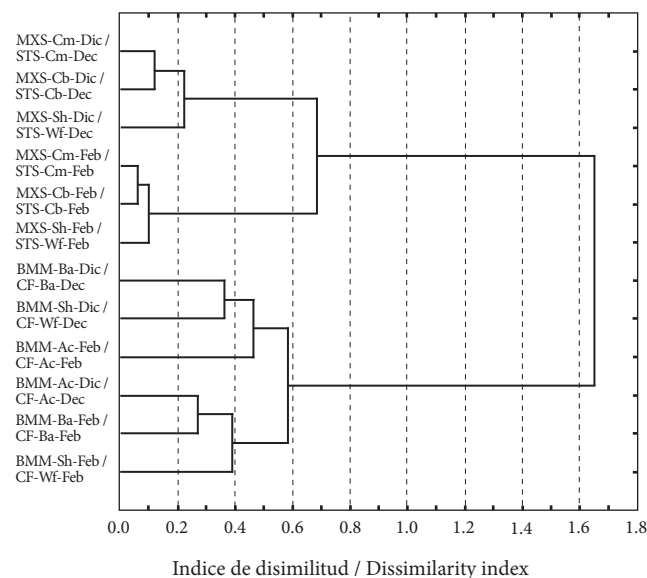


FIGURA 1. Disimilitud (distancias euclidianas) en la composición de morfoespecies de hongos micorrizógenos arbusculares en el suelo asociado a *Cheilanthes myriophylla* (Cm). *Ch. bonariensis* (Cb). *Blechnum appendiculatum* (Ba), *Adiantum capillus-veneris* (Ac) y a un área sin helechos (Sh). En dos fechas en dos ecosistemas (MXS: Matorral xerófilo semiárido y BMM: Bosque mesófilo de montaña) en Oaxaca, México.

FIGURE 1: Dissimilarity (Euclidean distances) in the composition of morphospecies of arbuscular mycorrhizal fungi in soil associated with *Cheilanthes myriophylla* (Cm). *Ch. bonariensis* (Cb). *Blechnum appendiculatum* (Ba), *Adiantum capillus-veneris* (Ac) and an area without ferns (Wf) on two dates in two ecosystems (STS: Semiarid tropical scrub and CF: Cloud forest) in Oaxaca, Mexico.

CUADRO 1. Hongos micorrizógenos arbusculares en áreas sin helechos (Sh) y en el suelo de los helechos *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) y *Adiantum capillus-veneris* (Ac) en dos ecosistemas de Oaxaca, México.

TABLE 1. Arbuscular mycorrhizal fungi in areas without ferns (Wf) and in soil with the ferns *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) and *Adiantum capillus-veneris* (Ac) in two ecosystems in Oaxaca, Mexico.

Morfoespecies / Helechos Morphospecies / Ferns	Matorral xerófilo semiárido / Semiarid tropical scrub						Bosque mesófilo de montaña / Cloud forest					
	Diciembre / December			Febrero / February			Diciembre / December			Febrero / February		
	Cm	Cb	Sh	Cm	Cb	Sh	Ba	Ac	Sh	Ba	Ac	Sh
<i>Acaulospora levis</i>							+		+			+
<i>A. denticulata</i>							+					
<i>A. scrobiculata</i>							+	+	+	+	+	
<i>A. spinosa</i>							+	+	+	+	+	+
<i>A. undulada</i>							+			+	+	
<i>A. aff. rehmi</i>								+		+	+	
<i>Acaulospora</i> sp.1	+	+		+	+	+						
<i>Acaulospora</i> sp.2		+		+	+	+	+	+		+		+
<i>Acaulospora</i> sp.3				+	+							
<i>Ambispora</i> sp.	+	+	+				+		+			
<i>Claroideoglosum claroidem</i>	+	+	+	+			+	+	+	+		+
<i>Claroideoglosum aff. etunicatum</i>	+	+	+	+	+	+						
<i>Diversispora</i> sp.									+			
<i>Entrophospora infrequens</i>	+	+	+	+	+	+	+		+		+	
<i>Entrophospora</i> sp.								+	+			
<i>Funneliformis constrictus</i>								+			+	
<i>F. geosporum</i>	+	+					+	+	+	+	+	
<i>F. mosseae</i>			+				+	+	+			
<i>Gigaspora</i> sp.							+	+		+		
<i>Glomus aff. caesaris</i>	+	+	+	+	+	+						
<i>Glomus spinuliferum</i>		+	+					+		+		
<i>Glomus</i> sp.							+	+	+	+		+
<i>Glomus</i> sp.1	+	+	+				+	+	+	+		
<i>Glomus</i> sp.2	+	+		+	+	+		+				+
<i>Glomus</i> sp.3	+			+	+	+			+			
<i>Pacispora</i> sp.	+	+	+									
<i>Racocetra</i> sp.							+	+			+	
<i>Redeckera fulvum</i>							+	+			+	
<i>Scutellospora calospora</i>							+		+		+	
<i>S. pellucida</i>									+		+	
<i>Scutellospora</i> sp.							+	+				
<i>Sclerocystis rubiformis</i>	+	+	+				+				+	
Riqueza / Richness	12	13	10	8	8	9	18	17	15	11	12	6
Abundancia /especie Abundance /species	90 (±7) ^b	122 (±12) ^a	70 (±11) ^c	186 (±9) ^b	231 (±23) ^a	85 (±5) ^c	274 (±31) ^a	221 (±23) ^a	173 (±19) ^b	240 (±25) ^a	183 (±11) ^b	100 (±7) ^c
Abundancia /fecha / Abundance /date	222.6 (±29.2) ^a			174.3 (±40.6) ^b			94.1 (±15.1) ^b			167.3 (±43.1) ^a		
Abundancia /ecosistema / Abundance /ecosystem	198.5 (±24.8) ^a						167.3 (±26.2) ^b					

± Error estándar de la media. Letras minúsculas distintas indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$) en la abundancia entre especies dentro de una misma fecha y ecosistema, entre fechas y, finalmente, entre ecosistemas.

± Standard error of the mean. Different lowercase letters indicate significant differences (Tukey, $P \leq 0.05$) in abundance among species within the same date and ecosystem, between dates and, finally, between ecosystems.

Esto sugiere que las cuatro especies de helechos favorecen la diversidad de HMA del suelo al incrementar la riqueza de morfoespecies y su abundancia con respecto a las áreas sin helechos.

Propiedades químicas y físicas del suelo

El Cuadro 2 muestra las propiedades del suelo analizadas mediante el ANOVA anidado y sus significancias. Por otra parte, en el Cuadro 3 se presentan las comparaciones de medias del pH, humedad y MO del suelo asociado a las cuatro especies de helechos. En dicho cuadro se observa que el pH del suelo de la rizósfera de *Ch. bonariensis* y *B. appendiculatum* fue más ácido que el de *Ch. myriophylla* y *A. capillus-veneris* y que el suelo del área sin helechos. La humedad del suelo fue menor en el matorral que en el bosque; en ambos ecosistemas, el suelo rizosférico de las especies fue más húmedo que el suelo del área sin helechos. En el matorral, la humedad del suelo de la rizósfera de *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis* fue similar en ambas fechas. En el bosque, en el mes de diciembre, el suelo rizosférico de *B. appendiculatum* fue más húmedo que el de *A. capillus-veneris*; mientras que en febrero ocurrió lo opuesto (Cuadro 3). La MO y el CO fueron mayores en el bosque que en el matorral. En el bosque, en febrero, los suelos de la rizósfera de *B. appendiculatum* y *A. capillus-veneris* tuvieron concentraciones similares de MO y CO, las cuales fueron mayores que el área sin helechos. En contraste, en diciembre, el suelo de la rizósfera de *B. appendiculatum* tuvo el mayor contenido de MO y CO, mientras que el contenido en la rizósfera de *A. capillus-veneris* y en el suelo sin helechos fueron estadísticamente similares ($P \leq 0.05$) (Cuadro 3, Figura 2A). Aunque no hay estudios al respecto, las diferencias en la humedad, MO y CO posiblemente se deban a la morfología del rizoma y la abundancia de raíces, ya que el rizoma de *A. capillus-veneris* es cortamente rastrero con raíces abundantes y el de *B. appendiculatum* es erecto y estolonífero con menor cantidad de raíces (Mickel & Smith, 2004).

1; Figure 1). Soils in fern-free areas had fewer morphospecies than the rhizospheric soil of the ferns. In the scrub, *Ch. myriophylla* had fewer morphospecies than *Ch. bonariensis*, and in the forest, *B. appendiculatum* had more morphospecies than *A. capillus-veneris*.

In both ecosystems, the rhizospheric soil of the ferns is a reservoir of AMF spores and morphospecies compared with the fern-free soil. This may be because the ferns form colonies and develop rhizomes, which act as traps of AMF spores that are carried by erosion or biotic dispersers from other microenvironments, as has been documented in other plant taxa (Camargo-Ricalde & Dhillon, 2003). It is possible that the fern species influence AMF multiplication in their rhizosphere by forming AMs and modifying soil resources, which favors sporulation (Smith & Read, 2008). The AMF morphospecies richness (32) in the four species is greater than the eight reported in ferns in China (Zhang, Guo, & Liu, 2004), the nine morphospecies in ferns in India (Muthukumar & Prabha, 2013) and the 20 reported in the semiarid scrub in Oaxaca, Mexico (Carballar, Palma, Hernández, & Robles, 2012). This suggests that the four fern species favor AMF diversity in the soil by increasing morphospecies richness and abundance compared to fern-free areas.

Chemical and physical soil properties

Table 2 shows the soil properties analyzed by nested ANOVA and their significances. On the other hand, Table 3 presents the comparison of means of soil pH, moisture and OM associated with the four fern species. This table shows that the pH of the rhizospheric soil of *Ch. bonariensis* and *B. appendiculatum* was more acidic than that of *Ch. myriophylla* and *A. capillus-veneris* and the fern-free soil area. Soil moisture was lower in the scrub than in the forest; in both ecosystems, the rhizospheric soil of the two species was wetter than the soil area without ferns. In the scrub, the soil moisture in

CUADRO 2. Análisis de varianza (ANOVA) anidado para las variables del suelo asociado a cuatro especies de helechos en dos ecosistemas de Oaxaca, México: *Cheilanthes myriophylla* y *Ch. bonariensis* en el matorral semiárido, y *Blechnum appendiculatum* y *Adiantum capillus-veneris* en el bosque mesófilo de montaña.

TABLE 2. Analysis of variance (ANOVA) nested for soil variables associated with four fern species in two ecosystems in Oaxaca, Mexico: *Cheilanthes myriophylla* and *Ch. bonariensis* in semiarid tropical scrub, and *Blechnum appendiculatum* and *Adiantum capillus-veneris* in cloud forest.

Variables	Fuente de variación / Source of variation (F)		
	Ecosistema / Ecosystem (E)	Especie / Species (S) [E]	Fecha / Date [E x S]
Abundancia de esporas / Spore abundance	35.4***	5.9*	6.3*
pH (1:2.5 H ₂ O)	18.5***	5.2*	0.2 ^{ns}
Humedad / Moisture	173.1***	9.1**	6.1*
Materia orgánica / Organic matter	49.6***	14.3***	8.0**
Carbono orgánico / Organic carbon	29.9***	10.3**	5.3*
Nitrógeno total / Total nitrogen	6.2*	9.4**	10.1***
Fósforo inorgánico / Inorganic phosphorus	60.0**	15.6***	12.5***

Análisis en el que se anidó a la especie en el ecosistema, y a la fecha en el ecosistema-especie.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: no significativo.

Analysis in which the species was nested in the ecosystem and the date in the ecosystem-species.

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, ns: not significant.

CUADRO 3. Propiedades del suelo de cuatro especies de helechos y de áreas sin helechos, en dos ecosistemas contrastantes de Oaxaca, México.
TABLE 3. Properties of the soil of four fern species and of fern-free areas in two contrasting ecosystems in Oaxaca, Mexico.

Ecosistema / Especies Ecosystem / Species	pH (1:2.5 H ₂ O)		Humedad / Humidity (%)		Materia orgánica / Organic matter (%)	
	Diciembre / December	Febrero / February	Diciembre / December	Febrero / February	Diciembre / December	Febrero / February
Matorral xerófilo semiárido Semiarid tropical scrub						
<i>Cheilanthes myriophylla</i>	7.3 ± 0.1 ^a	7.3 ± 0.1 ^a	8.1 ± 2.0 ^a	12.1 ± 1.2 ^a	3.1 ± 0.9 ^a	2.4 ± 0.4 ^{ab}
<i>Ch. bonariensis</i>	6.8 ± 0.1 ^b	6.7 ± 0.1 ^b	7.6 ± 1.1 ^{ab}	11.6 ± 1.8 ^a	3.6 ± 0.7 ^a	4.4 ± 0.7 ^a
Área sin helecho / Area without fern	7.4 ± 0.2 ^a	7.3 ± 0.3 ^a	6.0 ± 1.9 ^b	8.4 ± 1.1 ^b	0.9 ± 0.3 ^b	2.1 ± 0.4 ^b
Media / fecha Media / date	7.2 ± 0.1 ^A	7.1 ± 0.1 ^A	7.2 ± 1.1 ^B	11.1 ± 0.5 ^A	2.5 ± 0.5 ^A	3.2 ± 0.3 ^A
Media / ecosistema Media / ecosystem	7.2 ± 0.11 ^B		9.1 ± 0.68 ^B		2.8 ± 0.3 ^B	
Bosque mesófilo de montaña / Cloud forest						
<i>Blechnum appendiculatum</i>	6.0 ± 0.4 ^b	5.4 ± 0.2 ^b	70.2 ± 9.2 ^a	45.7 ± 0.8 ^b	9.8 ± 0.9 ^a	17.2 ± 3 ^a
<i>Adiantum capillus-veneris</i>	7.2 ± 0.1 ^a	6.6 ± 0.5 ^a	26.1 ± 4.7 ^b	78.9 ± 13 ^a	3.2 ± 0.3 ^b	17.9 ± 2 ^a
Área sin helecho / Area without fern	6.8 ± 0.1 ^a	6.9 ± 0.3 ^a	13.0 ± 3.9 ^c	29.2 ± 4.7 ^c	2.3 ± 0.8 ^b	4.5 ± 1.1 ^b
Media / fecha Media / date	6.7 ± 0.2 ^A	6.3 ± 0.2 ^A	36.4 ± 7.3 ^B	51.3 ± 7.1 ^A	13.8 ± 2.1 ^B	5.1 ± 0.9 ^A
Media / ecosistema Media / ecosystem	6.3 ± 0.1 ^A		43.8 ± 5.1 ^A		9.4 ± 1.3 ^A	

± Error estándar de la media. Letras distintas indican diferencias significativas (Tukey, $P \leq 0.05$). Las letras minúsculas indican comparación entre especies dentro de una misma fecha y ecosistema; las mayúsculas indican comparación entre fechas o ecosistemas.

± Standard error of the mean. Different letters indicate significant differences (Tukey, $P \leq 0.05$). Lowercase letters indicate comparison among species on the same date and within the same ecosystem; uppercase letters indicate comparison between dates or ecosystems.

En el matorral, el suelo de la rizósfera de *Ch. bonariensis* tuvo mayor concentración de Nt que el suelo de *Ch. myriophylla* y que el suelo sin helechos. Por otra parte, en el mes de febrero, en el bosque, los suelos de la rizósfera de *A. capillus-veneris* y *B. appendiculatum* registraron mayor concentración de Nt que el suelo sin helechos; mientras que en diciembre, el suelo de la rizósfera de *B. appendiculatum* tuvo el mayor contenido de Nt (Figura 2B). En el matorral, en el mes de diciembre, la concentración de Pi fue mayor en el suelo de la rizósfera de *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis* que en el suelo sin helechos. En el bosque, en el mes de febrero, el Pi fue mayor en el suelo de la rizósfera de *A. capillus-veneris* y *B. appendiculatum* que en las áreas sin helechos, mientras que en diciembre el contenido de Pi fue similar en los tres suelos (Figura 2C).

A nivel de ecosistema, el matorral y el bosque difirieron en abundancia y riqueza de HMA, debido a la interacción entre sus recursos edáficos y las especies de helechos. La mayor abundancia de esporas y la menor riqueza de morfoespecies de HMA en el matorral xerófilo, particularmente en diciembre, pudieran estar explicadas por un mayor estrés ambiental, ya que el suelo del matorral es más seco y menos fértil que el del bosque (Figura 2); es decir, la MA disminuye cuando los hospederos se encuentran en estrés fisiológico,

the rhizosphere of *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis* was similar on both dates. In the forest, in December, the rhizospheric soil of *B. appendiculatum* was wetter than that of *A. capillus-veneris*, while in February the opposite occurred (Table 3). The OM and OC were higher in the forest than in the scrub. In the forest, in February, the rhizospheric soils of *B. appendiculatum* and *A. capillus-veneris* had similar concentrations of OM and OC, which were greater than those in the fern-free area. By contrast, in December, the rhizospheric soil of *B. appendiculatum* had the highest content of OM and OC, while the content in the rhizosphere of *A. capillus-veneris* and in the fern-free soil was statistically similar ($P \leq 0.05$) (Table 3, Figure 2A). Although there are no studies in this regard, the differences in moisture, OM and OC are possibly due to the morphology of the rhizome and the abundance of roots, since the rhizome of *A. capillus-veneris* is short-creeping with abundant roots and that of *B. appendiculatum* is erect and stoloniferous with fewer roots (Mickel & Smith, 2004).

In the scrub, the rhizospheric soil of *Ch. bonariensis* had a higher Nt concentration than the soil of *Ch. myriophylla* and the fern-free soil. On the other hand, in the forest in February, the rhizospheric soils of *A. capillus-veneris* and *B. appendiculatum* recorded a higher Nt concentration than the fern-free soil, whereas in December, the rhizospheric

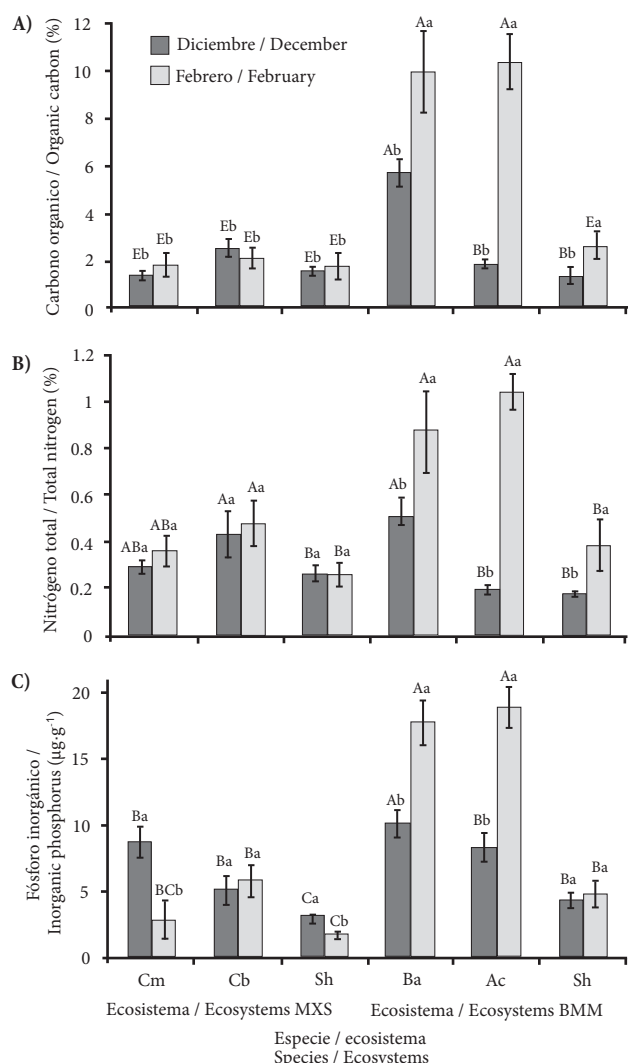


FIGURA 2. Análisis químico del suelo asociado a *Cheilanthes myriophylla* (Cm). *Ch. bonariensis* (Cb). *Blechnum appendiculatum* (Ba). *Adiantum capillus-veneris* (Ac) y a un área sin helechos (Sh). En dos ecosistemas (MXS: Matorral xerófilo semiárido y BMM: Bosque mesófilo de montaña) en Oaxaca, México. Letras mayúsculas distintas indican medias significativamente diferentes (Tukey, $P \leq 0.05$) entre especies o ecosistemas, letras minúsculas indican diferencias significativas entre fechas.

FIGURE 2. Chemical analysis of soil associated with *Cheilanthes myriophylla* (Cm). *Ch. bonariensis* (Cb). *Blechnum appendiculatum* (Ba). *Adiantum capillus-veneris* (Ac) and an area without ferns (Wf) in two ecosystems (STS: Semiarid tropical scrub and CF: Cloud forest) in Oaxaca, Mexico. Different uppercase letters indicate significantly different means (Tukey, $P \leq 0.05$) between species or ecosystems; lowercase letters indicate significant differences between dates.

promoviendo la esporulación de los HMA que colonizan las raíces. La composición de HMA en ambos ecosistemas no fue la misma, lo que sugiere que las especies de helechos en cada ecosistema se asocian a distintos HMA o que otras

soil of *B. appendiculatum* had the highest Nt content (Figure 2B). In the scrub, in December, the Pi concentration was higher in the rhizospheric soil of *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis* than in the fern-free soil. In the forest, in February, the Pi was higher in the rhizospheric soil of *A. capillus-veneris* and *B. appendiculatum* than in the fern-free areas, while in December the Pi content was similar in the three soils (Figure 2C).

At the ecosystem level, the scrub and forest differed in AMF abundance and richness due to the interaction between their soil resources and fern species. The greater AMF spore abundance and lower morphospecies richness in the tropical scrub, particularly in December, could be explained by greater environmental stress, since the scrub soil is drier and less fertile than that of the forest (Figure 2); that is, AMs decrease when the hosts are under physiological stress, promoting sporulation of AMF that colonize the roots. AMF composition in the two ecosystems was not the same, suggesting that the fern species in each ecosystem are associated with different AMF or that other species of such fungi are activated when there is more moisture and nutrients. For example, *Ch. bonariensis* and *B. appendiculatum* with more AMF morphospecies in the scrub and forest, respectively, were less similar in their composition (Figure 1). This allows inferring that the AMF morphospecies of the genera *Racocetra*, *Scutellospora*, *Diversispora*, *Gigaspora* and some of *Acaulospora* and *Funneliformis* may be more susceptible to environmental stress or do not associate with *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis*, but with *B. appendiculatum* and *A. capillus-veneris*, which explains the different AMF composition between the two ecosystems. These AMF genera have also been cited in temperate ecosystems with similar moisture and temperature to the cloud forest (González et al, 2012.), while *Glomus* is the dominant genus in semiarid ecosystems (Carballar et al., 2012). This evidence supports the hypothesis that the diversity of AMF in the rhizospheric soil of the ferns is regulated by soil resources (i.e. Nt, Pi and moisture) and the type of species (West, Brandt, Holstien, Hill, & Hill, 2009).

Arbuscular mycorrhizal colonization

Figure 3 shows the arbuscular mycorrhizal colonization in the four fern species studied. In the scrub, the *Ch. bonariensis* roots had higher colonization by hyphae than the *Ch. myriophylla* roots; both species had greater hyphal colonization in February than in December. By contrast, in the forest, colonization did not differ between species or dates; however, the percentages of hyphae in the forest species were similar to those of *Ch. bonariensis* in the scrub (Figure 3A). On the other hand, colonization by vesicles in the four species was higher in February than in December (Figure 3B), but colonization by arbuscules was only recorded in *Ch. bonariensis* (scrub) and *B. appendiculatum* (forest); greater colonization was recorded in the scrub (Figure 3C).

especies de este tipo de hongos se activan cuando hay más humedad y nutrientes. Por ejemplo, *Ch. bonariensis* y *B. appendiculatum* con más morfoespecies de HMA en el matorral y el bosque, respectivamente, fueron menos similares en su composición (Figura 1). Esto permite inferir que las morfoespecies de HMA de los géneros *Racocetra*, *Scutellospora*, *Diversispora*, *Gigaspora* y algunas de *Acaulospora* y *Funneliformis* podrían ser más susceptibles al estrés ambiental o no asociarse con *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis*, pero sí con *B. appendiculatum* y *A. capillus-veneris*, lo que explica la composición diferente de HMA entre ambos ecosistemas. Estos géneros de HMA también se han citado en ecosistemas templados con humedad y temperatura similares al bosque mesófilo (González et al., 2012); mientras que *Glomus* es el género dominante en los ecosistemas semiáridos (Carballar et al., 2012). Estas evidencias apoyan la hipótesis de que la diversidad de los HMA en el suelo de la rizósfera de los helechos es regulada por los recursos edáficos (i. e. Nt, Pi y humedad) y por la identidad de la especie (West, Brandt, Holstien, Hill, & Hill, 2009).

Colonización micorrícica arbuscular

La Figura 3 muestra la colonización micorrícica arbuscular en las cuatro especies de helechos estudiadas. En el matorral, las raíces de *Ch. bonariensis* tuvieron mayor colonización por hifas que las raíces de *Ch. myriophylla*; ambas especies presentaron mayor colonización hifal en febrero que en diciembre. En contraste, en el bosque, la colonización no difirió entre especies ni fechas; sin embargo, los porcentajes de hifas en las especies del bosque fueron similares a los de *Ch. bonariensis* en el matorral (Figura 3A). Por otra parte, la colonización por vesículas en las cuatro especies fue mayor en febrero que en diciembre (Figura 3B), pero la colonización por arbuscúlos sólo se registró en *Ch. bonariensis* (matorral) y *B. appendiculatum* (bosque); la mayor colonización se registró en el matorral (Figura 3C).

La Figura 4 presenta el análisis de correspondencia canónica que relaciona las propiedades del suelo con los parámetros de micorrización arbuscular. El análisis canónico, cuyos ejes explicaron 51.4 % de la varianza, indica que la colonización está relacionada con los recursos del suelo. Así, la correlación positiva del primer eje con el pH (0.36) y la negativa con el Nt (-0.15) y el Pi (-0.17); así como la correlación negativa del segundo eje con la MO (-0.12), el CO (-0.10) y la humedad (-0.27), sugieren que la diferencia en humedad y nutrientes (Nt y Pi), entre fechas y ecosistemas, predicen mejor la colonización por MA y la riqueza de HMA de las especies de helechos.

La colonización micorrícica en las especies estudiadas fue baja (17 a 24 %), comparada con el 68 % registrado en otros helechos (Kessler et al., 2010; Lehnert et al., 2009); sin embargo, fue cercana al 33 % en Pteridofitas de China. La baja colonización micorrícica en las especies estudiadas puede atribuirse a que los niveles de MO, Nt y Pi en el suelo se

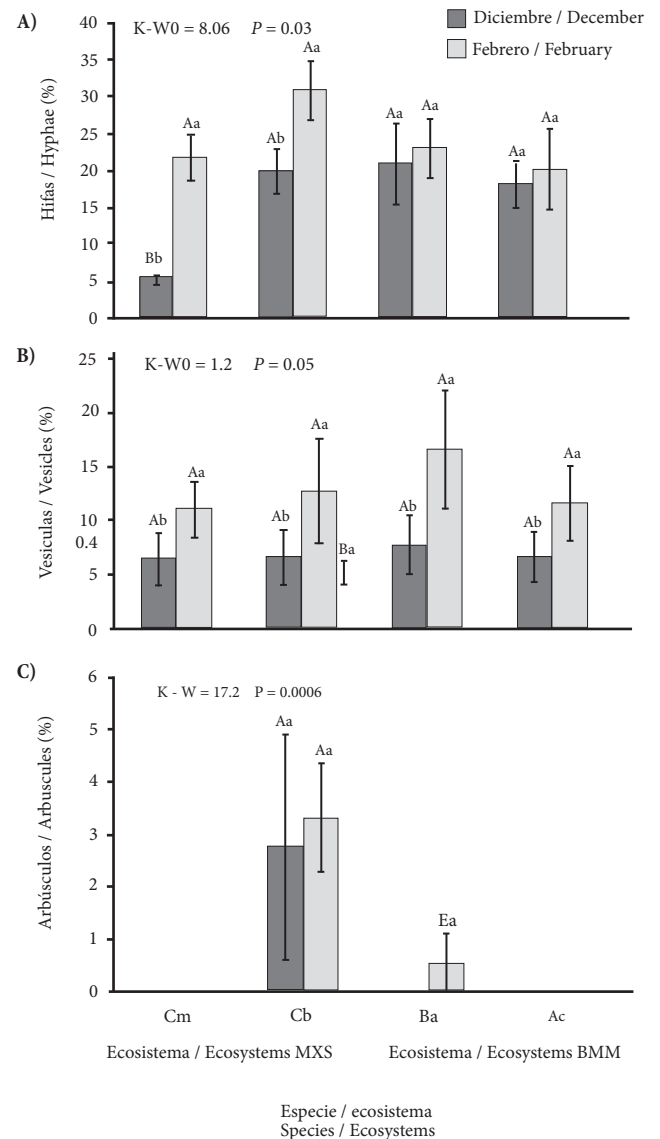


FIGURA 3. Colonización de las raíces de los helechos *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) y *Adiantum capillus-veneris* (Ac) por estructuras de hongos micorrizógenos arbusculares, en dos ecosistemas (MXS: Matorral xerófilo semiárido y BMM: Bosque mesófilo de montaña) en Oaxaca, México. K-W = Kruskal-Wallis. Letras mayúsculas distintas indican medias significativamente diferentes entre especies o ecosistemas; letras minúsculas indican diferencias significativas entre fechas.

FIGURE 3: Colonization of the roots of the ferns *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) and *Adiantum capillus-veneris* (Ac) by structures of arbuscular mycorrhizal fungi, in two ecosystems (STS: Semiarid tropical scrub and CF: Cloud forest) in Oaxaca, Mexico. K-W = Kruskal-Wallis. Different uppercase letters indicate significantly different means between species or ecosystems; lowercase letters indicate significant differences between dates.

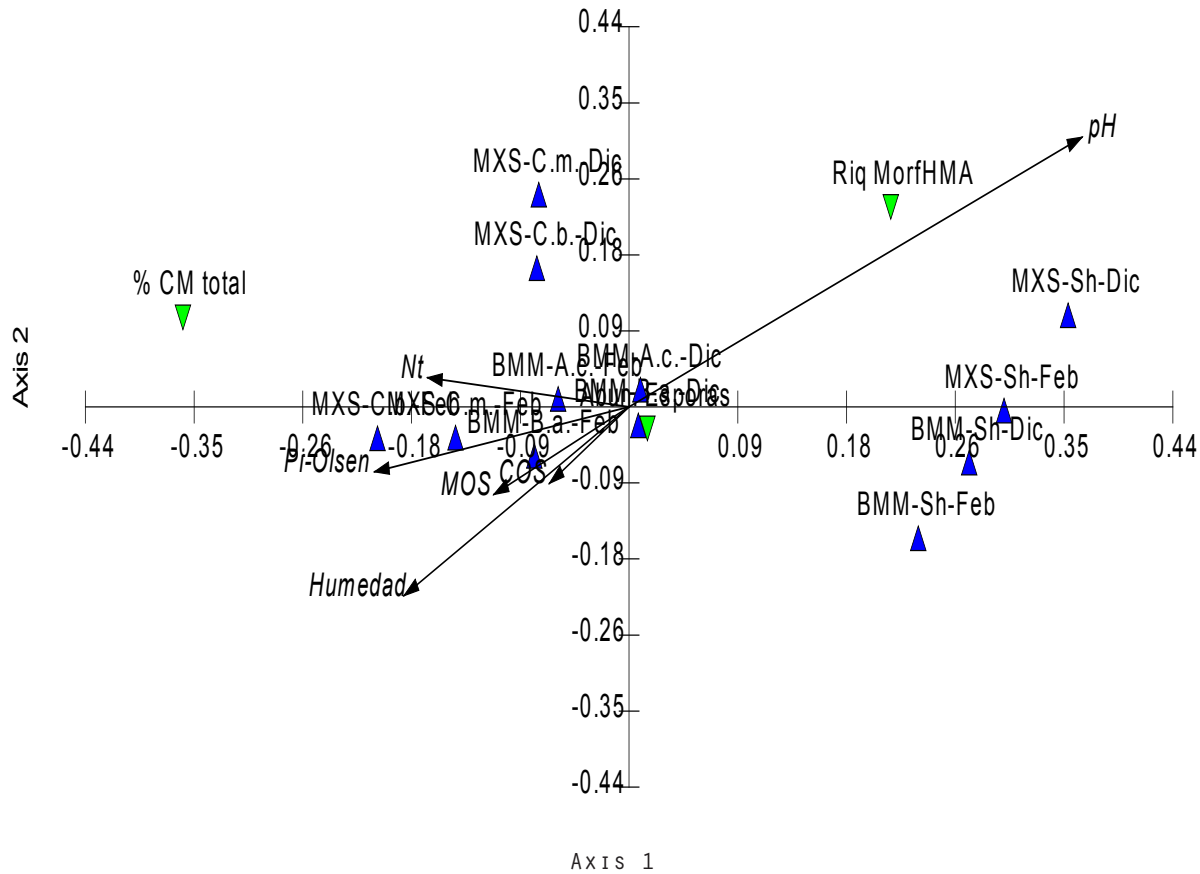


FIGURA 4. Análisis de correspondencia canónica que relaciona las propiedades del suelo (en vectores) con los parámetros de micorrización arbuscular (esporas, colonización micorrízica [% CM], riqueza de morfoespecies de hongos micorrizógenos arbusculares [RiqMorfHMA]) de los helechos *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) y *Adiantum capillus-veneris* (Ac), en dos fechas, en dos ecosistemas (MXS: Matorral xerófilo semiárido y BMM: Bosque mesófilo de montaña) en Oaxaca, México.

FIGURE 4. Canonical correspondence analysis relating soil properties (on vectors) with the parameters of arbuscular mycorrhization (spores, mycorrhizal colonization [% MC], morphospecies richness of arbuscular mycorrhizal fungi [MorpRicAMF]) of the ferns *Cheilanthes myriophylla* (Cm), *Ch. bonariensis* (Cb), *Blechnum appendiculatum* (Ba) and *Adiantum capillus-veneris* (Ac), on two dates, in two ecosystems (STS: Semiarid tropical scrub and CF: Cloud forest) in Oaxaca, Mexico.

consideran altos (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2000); por lo que la disponibilidad de recursos edáficos disminuyó la formación de la MA. La MO y el CO se acumulan en el suelo debajo de los helechos, debido a la entrada de hojarasca y raíces de las mismas especies o al arrastre desde otros microambientes; esto, aunado a una mayor humedad bajo las especies en ambos ecosistemas, favorece la mineralización del N y P, cuyas formas inorgánicas quedan disponibles para las hifas y raíces de los helechos. La presencia de vesículas y la baja presencia de arbusculos en las raíces de las especies estudiadas indican una MA pasiva. No obstante, en el matorral, la diferencia en la colonización hifal fue atribuida a que se requiere mayor cantidad de hifas para que *Ch. myriophylla* y *Ch. bonariensis* obtengan recursos del suelo (i. e. Pi). Los porcentajes de MA no correlacionaron con la abun-

Figure 4 presents the canonical correspondence analysis relating soil properties to the parameters of arbuscular mycorrhization. The canonical analysis axes explained 51.4 % of the variance, indicating that colonization is related to soil resources. Thus, the positive correlation of the first axis with pH (0.36) and the negative with Nt (-0.15) and Pi (-0.17), and the negative correlation of the second axis with OM (-0.12), OC (-0.10) and moisture (-0.27), suggest that the difference in moisture and nutrients (Nt and Pi), between dates and ecosystems, best predict AM colonization and AMF richness of the fern species.

Mycorrhizal colonization in the studied species was low (17-24 %), compared with 68 % recorded in other ferns (Kessler et al., 2010; Lehnert et al., 2009); however, it was close to the 33 % mentioned by Zhang and Liang (2004) in Pteridophytes

dancia de esporas de HMA, como ocurre en otros helechos (Muthukumar & Udaiyan, 2000), lo que sugiere que la colonización radicular en las especies estudiadas se inició no únicamente por esporas, sino también a través de fragmentos de micelio y raíces micorrizadas de plantas adyacentes a estas especies (Muthukumar & Prabha, 2013). No obstante, los resultados confirman la micotrofia de *Cheilanthes*, *Blechnum* y *Adiantum* en ecosistemas de México, lo que coincide con lo mencionado en otros ecosistemas del mundo (Gemma, Koske, & Flynn, 1992; Hernández, Serrano, Albornoz, & Rodríguez, 2008), así como la micotrofia *Ch. bonariensis* y *B. appendiculatum*. Estas dos especies tuvieron mayor micorrización que *Ch. myriophylla* y *A. capillus-veneris* en sus respectivos ecosistemas; además, la presencia de arbusculos en las raíces de *Ch. bonariensis* y *B. appendiculatum* indica una MA activa, ya que en dichas estructuras ocurre el intercambio nutrimental planta-hongo. Lo anterior sugiere que estas especies son más dependientes de la MA, en particular, cuando están sometidas a estrés ambiental como ocurre con *Ch. bonariensis* en el matorral.

CONCLUSIONES

Este estudio documentó que el suelo asociado a *Ch. myriophylla*, *Ch. bonariensis*, *B. appendiculatum* y *A. capillus-veneris* del estado de Oaxaca es un reservorio de esporas y tiene una riqueza de 32 morfoespecies de HMA. Por lo anterior es posible sugerir que las cuatro especies estudiadas podrían generar inóculos nativos útiles para la restauración ambiental en sus respectivos ecosistemas. Asimismo, por primera vez se reporta la MA en *Ch. bonariensis* (matorral xerófilo) y *B. appendiculatum* (bosque mesófilo), especies con la mayor abundancia de esporas y riqueza de morfoespecies de HMA, así como colonización micorrízica; lo cual sugiere que la MA está regulada por la disponibilidad de humedad, Nt y Pi en el suelo de la rizósfera y por la identidad de la especie del helecho.

AGRADECIMIENTOS

A Rosalva García-Sánchez y Eduardo Chimal por su asesoría en las técnicas micorrízicas, así como a Andrés Sánchez, Gabriel Aguilar y Juan Carlos Rivera, por su apoyo en el campo. Asimismo, al municipio de San Pedro y San Pablo Tequixtepec, Distrito de Huajuapán de León, y al municipio de San Pedro Ocopetatlán, Teotitlán, Oaxaca, por las facilidades para esta investigación.

REFERENCIAS

- Bremmer, J. A., & Mulvaney, C. S. (1982). Total nitrogen. In A. L. Page, R. H. Miller, & D. R. Keeney (Eds.), *Methods of soil analysis* (pp. 595–624). Madison, USA: American Society of Agronomy.
- Camargo-Ricalde, S. L., & Dhillon, S. S. (2003). Endemic *Mimosa* species can serve as mycorrhizal “resource islands” within semiarid communities of the Tehuacán-Cuicatlán Valley, Mexico. *Mycorrhiza*, 13, 129–136. doi: 10.1007/s00572-002-0206-5

in China. The low mycorrhizal colonization in the studied species can be attributed to the fact that the OM, Tn and Ip levels in the soil are considered high (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT], 2000); therefore, the availability of soil resources decreased AM formation. OM and OC accumulate in the soil beneath the ferns, due to the entry of leaf litter and roots of the same species or drift from other microenvironments; this, coupled with higher moisture under the species in both ecosystems, promotes mineralization of N and P, whose inorganic forms are left available for the hyphae and roots of the ferns. The presence of vesicles and the low presence of arbuscules in the roots of the studied species indicate passive AMs. However, in the scrub, the difference in hyphal colonization was attributed to the greater amount of hyphae required by *Ch. myriophylla* and *Ch. bonariensis* to obtain soil resources (i.e. Pi).

AM percentages did not correlate with AMF spore abundance, as occurs in other ferns (Muthukumar & Udaiyan, 2000), suggesting that the root colonization in the studied species was initiated not only by spores, but also through mycelial fragments and mycorrhized roots of plants adjacent to these species (Muthukumar & Prabha, 2013). However, the results confirm the mycotrophy of *Cheilanthes*, *Blechnum* and *Adiantum* in Mexico's ecosystems, which coincides with what has been reported for other ecosystems in the world (Gemma, Koske, & Flynn, 1992; Hernández, Serrano, Albornoz, & Rodríguez, 2008), as well as the mycotrophy of *Ch. bonariensis* and *B. appendiculatum*. These two species had higher mycorrhization than *Ch. myriophylla* and *A. capillus-veneris* in their respective ecosystems; also, the presence of arbuscules in the roots of *Ch. bonariensis* and *B. appendiculatum* indicates active AMs, since in these structures the plant-fungus nutrient exchange occurs (Zhang & Liang, 2004). This suggests that these species are more dependent on AMs, especially when subjected to environmental stress as occurs with *Ch. bonariensis* in the scrub.

CONCLUSIONS

This study documented that soil associated with *Ch. myriophylla*, *Ch. bonariensis*, *B. appendiculatum* and *A. capillus-veneris* in the state of Oaxaca is a reservoir of AMF spores and has a richness of 32 morphospecies. Therefore, it can be suggested that the four species studied could generate native inocula useful for environmental restoration in their respective ecosystems. Also, for the first time AMs are reported in *Ch. bonariensis* (tropical scrub) and *B. appendiculatum* (cloud forest), species with the highest AMF spore abundance and morphospecies richness, as well as mycorrhizal colonization: this suggests that AMs are regulated by the availability of moisture, Nt and Pi in the rhizospheric soil and by the type of fern species.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Rosalva García-Sánchez and Eduardo Chimal for their advice on mycorrhizal techniques, and Andrés Sánchez, Gabriel Aguilar and Juan Carlos Rivera for their support in the field. They are also grateful to the mu-

- Carballar, S., Palma, F. J., Hernández, L., & Robles, C. (2012). Arbuscular mycorrhizal potential and mycorrhizal fungi diversity associated with *Agave potatorum* Zucc. in Oaxaca, Mexico. *Ecological Research*, 28, 217–226. doi: 10.1007/s11284-012-1008-7
- Fernández, N., Fontenla, S., & Messuti, M. I. (2010). Mycorrhizal status of obligate and facultative epiphytic ferns in Valdivian temperate forest of Patagonia, Argentina. *American Fern Journal*, 100, 16–26. doi: org/10.1640/0002-8444-100.1.16
- Gemma, J. N., Koske, R. E., & Flynn, T. (1992). Mycorrhizae in Hawaiian Pteridophytes: Occurrence and evolutionary significance. *American Journal of Botany*, 79, 843–852. Obtenido de <http://www.jstor.org/stable/2444993>
- Gerdenmann, W., & Nicolson, T. (1963). Spores of mycorrhizal endogene species extracted from soil by wet sieving and decanting. *British Mycological Society*, 46, 253–244.
- González, J. C., Vega, M., Varela, L., Martínez, M., Carreón, Y., & Gavito M. E. (2012). Arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities and land use change: The conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecology*, 5, 16–23. doi:10.1016/j.funeco.2011.09.002
- Hernández, M., Serrano, S., Albornoz, P., & Rodríguez, F. (2008). Anatomía de rizoma, raíz y micorrizas arbusculares en *Cheilanthes pruinata* Kaulf. y *C. myriophylla* Desv. (Pteridaceae) en el Noroeste Argentino. *Lilloa*, 45, 73–82. Obtenido de <http://www.lillo.org.ar/?q=taxonomy/term/76>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI) (Cartógrafo). (2011). *Prontuario de información geográfica municipal de los Estados Unidos Mexicanos-San Pedro y San Pablo Tequixtepec y San Pedro Ocopetatlillo, Oaxaca. Claves geoestadísticas 20340 y 20322*. México: Autor.
- Jansa, J., Finlay, R., Wallander, H., & Smith, F. A. (2011). Role of mycorrhizal symbiosis in phosphorus cycling. In E. K. Bünemann, A. Oberson, E. Frossard (Eds.), *Phosphorus in action: Biological processes in soil phosphorus cycling (soil biology)* (pp. 276–282). Berlin, Germany: Springer-Verlag.
- Kessler, M., Jonas, R., Strasberg, D., & Lehnert, M. (2010). Mycorrhizal colonization of ferns and lycophytes on the island of La Réunion in relation to nutrient availability. *Basic Applied Ecology*, 11, 329–336. doi:10.1016/j.baae.2010.01.002
- Lehnert, M., Kottke, I., Setaro, S., Pazmiño, L.F., Suárez, J. P., & Kessler, M. (2009). Mycorrhizal associations in ferns from Southern Ecuador. *American Fern Journal*, 99, 292–306. doi: org/10.1640/0002-8444-99.4.292
- Magurran, A. E. (2004). *Measuring biological diversity*. Victoria, United Kingdom: Blackwell Sci.
- McGonigle, T. P. (1990). A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*, 115, 495–501. doi: /10.1111/j.1469-8137.1990.tb00476.x
- Mehlreter, K. (2010). Fern conservation. In K. Mehlreter, L. R. Walker, J. M. Sharpe (Eds.), *Fern Ecology* (pp. 323–325). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Mickel, J. T., & Smith, A. R. (2004). *The Pteridophytes of Mexico*. Memoirs of the New York Botanical Garden, 88, 1-1054.
- municipality of San Pedro and San Pablo Tequixtepec, District of Huajuapán de León, and the municipality of San Pedro Ocopetatlillo, Teotitlán, Oaxaca, for the facilities used for this research.

End of English Version

- diversidad de Oaxaca* (pp. 121–139). México: Instituto de Biología, UNAM- World Wildlife Fund.
- ter Braak, C. J. F. (1990). *Update notes for CANOCO program version 3.10*. Wageningen, USA: Agricultural Mathematics Group. Obtenido de <http://edepot.wur.nl/250652>
- Turnau, K., Anielska, T., & Jurkiewicz, J. (2005). Mycothallic/mycorrhizal symbiosis of chlorophyllous gametophytes and sporophytes of a fern, *Pellaea viridis* (Forsk.) Prantl (Pellaceaceae, Pteridales). *Mycorrhiza*, 15, 121–128. doi: 10.1007/s00572-004-0306-5
- Walker, C. (1997). *Spore extraction by centrifugation-sugar flotation*. New Milton, UK: Biological Research and Imaging Laboratory.
- Walkley, A., & Black, I. A. (1934). An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science*, 37, 29–38.
- Walker, L. R., & Sharpe, J. M. (2010). Ferns, disturbance and succession. In K. Mehlreter, L. R. Walker, & J. M. Sharpe (Eds.), *Fern Ecology* (pp. 177–219). Cambridge, UK: Cambridge University Press.
- Wang, B., & Qiu, Y. L. (2006). Phylogentic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza*, 96, 299–363. doi: 10.1007/s00572-005-0033-6
- West, B., Brandt, J., Holstien, K., Hill, A., & Hill, M. (2009). Fern-associated arbuscular mycorrhizal fungi are represented by multiple *Glomus* spp.: Do environmental factors influence partner identity? *Mycorrhiza*, 19, 295–304. doi: 10.1007/s00572-009-0234-5
- Zhang, Y., & Guo, L.-D., & Liu, R.-J. (2004). Arbuscular mycorrhizal fungi associated with common pteridophytes in Dujiangyan, Southwest China. *Mycorrhiza*, 14, 25–30. doi: 10.1007/s00572-003-0272-3