



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS Y SUSTENTABILIDAD
ECOLOGÍA

ATRIBUTOS FUNCIONALES DE LAS COMUNIDADES DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES EN PARCELAS EN REGENERACIÓN NATURAL DEL BOSQUE
TROPICAL SECO.

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

SILVIA MARGARITA CARRILLO SAUCEDO

TUTORA PRINCIPAL DE TESIS: DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO.
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

COMITÉ TUTOR: DRA. MARÍA DEL ROCÍO CRUZ ORTEGA
INSTITUTO DE ECOLOGÍA, UNAM.

DR. VÍCTOR JOAQUÍN JARAMILLO LUQUE.
INSTITUTO DE INVESTIGACIONES EN ECOSISTEMAS
Y SUSTENTABILIDAD, UNAM.

MORELIA, MICHOACÁN.

OCTUBRE DE 2018.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©

PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

OFICIO CPCB/901/2018

Asunto: Oficio de Jurado para Examen de Grado.

Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Por medio de la presente me permito informar a usted, que el Subcomité de Ecología y Manejo Integral de Ecosistemas del Posgrado en Ciencias Biológicas, en su sesión ordinaria del día **11 de junio de 2018**, aprobó el siguiente jurado para la presentación del examen para obtener el grado de **DOCTORA EN CIENCIAS** a la alumna **CARRILLO SAUCEDO SILVIA MARGARITA**, con número de cuenta **512012397** con la tesis titulada, "**Atributos funcionales de las comunidades de hongos micorrizicos arbusculares en parcelas en regeneracion natural del bosque tropical seco**", dirigida por la **DRA. MAYRA ELENA GAVITO PARDO**.

Presidente: Dra. Angelina Martínez Yrizar
Vocal: Dr. Francisco Javier Álvarez Sánchez
Secretario: Dr. Víctor Joaquín Jaramillo Luque
Suplente: Dra. María del Rocío Cruz Ortega
Suplente: Dr. Francisco Mora Ardila

Sin otro particular, quedo de usted.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx., a 25 de septiembre de 2018

DR. ADOLFO GERARDO NAVARRO SIGÜENZA
COORDINADOR DEL PROGRAMA



AGRADECIMIENTOS INSTITUCIONALES

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por darme la oportunidad de cursar el doctorado y por el apoyo administrativo y económico para asistir a congresos y estancias.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para realizar mis estudios de doctorado.

A los proyectos **SEP-CONACyT 83441, 2009-129740, SEP-CONACyT 2015-255544, DGAPA-PAPIIT IN224010** que contribuyeron a financiar esta investigación.

Al Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, UNAM por las facilidades otorgadas para realizar este trabajo.

A la Dra. Mayra Elena Gavito Pardo (tutora principal) y a los miembros del comité tutorial, Dr. Víctor Joaquín Jaramillo Luque y Dra. María del Rocío Cruz Ortega, por su guía y asesoría durante el desarrollo de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

“En la aritmética de la vida, uno siempre es muchos. Muchos a menudo forman uno, y uno, cuando se examina más de cerca, aparece compuesto de muchos”

Lynn Margulis En: Sagan D. (2012)

A los Académicos

Cuando comencé este viaje poco sabía del grupo de Hongos Micorrízicos Arbusculares, salvo que estaban en las raíces y que uno podía saber quién era quién a través de las esporas encontradas en el suelo. Agradezco profundamente a los Dres. Eduardo Medina-Roldán, Jerry Barrow e Isaac Reyes-Vera quienes me mostraron por primera vez a este maravilloso grupo de microorganismos en las raíces de los pastos.

A la Dra. Mayra Elena Gavito Pardo por su asesoría durante el doctorado.

A los Dres. Rocío Cruz-Ortega y Víctor Jaramillo por formar parte del comité tutor y animarme a seguir adelante.

Al Posgrado en Ciencias Biológicas especialmente a su personal: Lilia Espinoza y Dr. Armando Rodríguez y a la oficina de posgrado del IIES: Maestra Leonarda Terán y al Dr. Roberto Lindig, sin su apoyo este paso no hubiera sido posible.

A los Dres. Francisco Mora Ardila y Ernesto Vega por su apoyo con los modelos estadísticos y por permitirme un espacio para la reflexión.

A la Biol. Yolanda García, M. en C. Maribel Nava, M. en C. Gumersindo Sánchez y M. en C. Felipe Arreola Villa por su apoyo técnico durante la realización de esta tesis. Gracias además por su amistad y las aventuras compartidas.

A la Unidad de Telecomunicaciones del IIES: Heberto Ferreira Medina, Alberto Valencia García y Atzimba López Maldonado, por su apoyo para facilitar las conexiones durante los tutoriales.

A los Dres. Angelina Martínez-Yrizar, Patricia Guadarrama, Rocío Cruz-Ortega, Horacio Paz, Javier Álvarez-Sánchez, Francisco Mora-Ardila y Víctor Jaramillo por formar parte del comité de candidatura y del jurado de este examen. Sus comentarios y crítica constructiva,

realmente me ayudaron a replantear los aspectos ecológicos de este estudio y robustecieron la presentación de resultados y la discusión de esta tesis.

Al laboratorio Forest Ecology and Forest Management de la Universidad de Wageningen, Holanda, especialmente a los Dres. Laurens Porter, Madelon Loobek, Pieter A Zuidema y Frans Bongers. Gracias por acogerme durante tres semanas en su dinámica laboral, por hacer que ese viaje a “las Europas” fuera una aventura académica y personal. Gracias por impulsarme, por los consejos y el tiempo compartido.

Al Dr. Manuel Maass y al Biól. Raúl Ahedo por facilitarme los datos de precipitación y a la Dra. María Eugenia por facilitarme los datos de temperatura de la estación de Biología.

A los amigos y compañeros de laboratorio y del IIES Fabiola Murguía, Guillermo Murray, Luis Martín Cardona, Claudia González, Yolanda Cabrera, María Haro, Julio Cabrera, Teresita Ávila, Antonio Chijarte, Ricardo Leyva, Daniel Chávez, Claudia Urquijo, Karem del Castillo, Daniel Cohen, Laura Castañeda, María Vittoria Moretti, Yuselmi Palacios, Arianna Martínez, Sandra Tonantzín, Jesús Enrique Landa, Andrea Raya y Eloy Pat quienes con sus ocurrencias y apoyo constante hicieron el trabajo de laboratorio, de invernadero y de escritorio más fácil. Espero no haber olvidado a ninguno.

Al personal de la Estación de Biología Chamela por hacer cómodo mi trabajo de campo, en especial quiero agradecer el apoyo en campo y en los experimentos de: Gustavo Verduzco Robles, Abel Verduzco Robles, Diego Flores López, Julio César Sánchez Cárdenas y del joven Emanuel García. Agradezco el apoyo técnico con datos sobre el clima del Biol. Salvador Araiza y el apoyo técnico para el uso de microscopios y del herbario del M. en C. Enrique Ramírez García. También agradezco el apoyo administrativo de Norma Barocio, Ignacia Rubio Crisosto, Delia Verduzco Robles y Dr. Jorge Vega quienes facilitaron mi estancia en la estación. Finalmente agradezco a las Sras. Margarita Cárdenas, Gloria Sánchez Cárdenas, Evangelina Robles Jiménez, Lucía López Figueroa, Guadalupe Vidrio Robles y María de la Paz González quienes con su servicio y calidad humana hicieron comfortable mi estancia.

A la gente de San Mateo que me apoyó en las salidas al campo: Eloy Castro, Julio Castro, Rigoberto Gómez y José Gómez.

No puedo terminar esta sección de agradecimientos sin reconocer el trabajo de los profesores que me han formado y que a la distancia han estado al pendiente de mí.

Al grupo de profesores de la carrera de Biología de la UACJ por formarme, inspirarme y darme ánimos para salir y conocer el mundo: Guillermo Bojórquez, Helvia Pelayo, Marcos Lizárraga, Miroslava Quiñonez y Ana Gatica.

A los Dres. Tulio Arredondo y Elisabeth Huber-Sanwald del IPICYT por enseñarme que el camino de la ciencia tiene matices y por su confianza en mí.

A los profesores de quienes aprendí durante mi estancia por la UNAM, Dres. Manuel Maass, Víctor Jaramillo, Angelina Martínez-Yrizar, Cristina Siebe, Lorenzo Vazquez-Selem, John Larsen y Mauricio Quesada.

Los personales

Estos agradecimientos pueden parecer largos pero formamos parte de una red de interacciones que lo van moldeando a uno a lo largo de este camino de la vida (cómo las micorrizas). Uno es lo que es gracias a las experiencias que vive, los momentos que comparte y las personas de las que se rodea. Durante el transcurso de esta tesis viví experiencias difíciles en campo cómo: el paso de un huracán, el piquete de un alacrán, un accidente de carretera, etc., pero también hubo experiencias muy buenas como: el curso de suelos y geomorfología, el simposio de la New Phytologist, la pequeña estancia en Wageningen (dónde aprendí a andar en bici), los eventos de Puertas Abiertas de la estación de Biología, el diplomado de divulgación (UMSNH), entre otras. En el plano familiar perdí a una tía pero gané tres cuñadas, una sobrina y encontré una familia postiza, llamados amigos, así que hay mucho que agradecer.

En primer lugar, agradezco a mis padres y hermanos, por estar siempre, por ser ese dulce hogar dónde puedo refugiarme. Son un gran ejemplo de vida y de trabajo constante. No hay palabras suficientes que alcancen a mostrar lo que siento por ustedes. Han estado conmigo al pie del cañón a través de sus oraciones, palabras de ánimo y sustento. Todo lo que soy se los debo a ustedes.

A mis tíos: Sandra, Eleuterio y Eliseo, y primos Saúl, Vicky y familias gracias por recibirme en su casa cada vez que voy pa' Juárez. Gracias por esas pláticas alrededor de la mesa mientras compartimos las calabacitas que hace el tío Tello o las empanaditas de la tía Sandra. Esa pequeña "tradición" me ayuda a no olvidar mis raíces norteñas. Gracias por su sencillez.

A mis amigas de Juárez: Flor, Rosalva, Sarah, Lidia, Diana, Carmen, Evita, Grisel, Dennise, Beatriz y Alejandra por ser esas amigas que mantienen mis pies en el piso y me impulsan a ser mejor. Gracias por enseñarme que la amistad puede durar muchos, muchos años, aun cuando nos vemos poco. Les agradezco darme el privilegio de ser la "tía vaga" de las historias antes de dormir de sus hijos.

A Sarahí Alfaro Guzmán, por ser la amiga de los sueños, gracias por acompañarme en los proyectos artístico-científicos, por hacer realidad las ideas "artísticas" de mi cabeza en ese abrazo entre la ciencia y el arte y por las hermosas ilustraciones que acompañan este trabajo. Espero que estas colaboraciones continúen, pero sobre todo nuestra amistad.

A esos amigos entrañables que hicieron que este tiempo transcurriera de manera afable Felipe, Luis Martín, Ana Paola, Mariana, Leonardo, Pachi y Cristina, gracias por la convivencia, las anécdotas, el futbol, la ñoñez y las demás cosas compartidas.

A Teresita Ávila-Val, mi compañera en los congresos de micorrizas, pero sobre todo mi amiga. Hay tantas historias que contar y tantas vivencias que escribiría un libro solo para no olvidar las anécdotas y reír cada vez que lo lea. Espero que pronto puedas estar dando este paso.

A las personas que de alguna u otra manera compartieron un pedacito de su vida conmigo en mi paso por Morelia: “Richard” Vélez, José “El matemático”, Rocío, Naty, Judith, Karolina, Víctor, Timi, Julieta y los “Clandestinos”.

A esas amigas de la vida Angélica Jiménez y Gabriela Uribe, gracias por creer en mí, por apoyarme en tiempos difíciles y por compartirme la dulce locura de sus mundos.

A Luis Alfonso, por ser ese amigo especial y compañero de aventuras. Gracias por darle sabor a mi vida. Deseo que te vaya bien en los planes futuros y ojalá coincidamos.

A los chicos a quienes les dí clases durante este tiempo (Biología-UMSNH, LCA, TIC’s y Ecología-ENES) gracias por contagiarme su energía, por renovar mis fuerzas y por retarme a ser un mejor profesor.

A Luis Domínguez por confiar en mí para ser su ayudante de clase, aprendí mucho no solo de cómo funciona el “Planeta Tierra” sino también el cómo trabajar con los estudiantes.

A Horacio Cano por enseñarme la importancia de la divulgación del quehacer científico y por escucharme y platicar cada vez que tengo algo que compartir.

Al ensamble de cuerdas Tradición Purépecha del Centro Cultural de la UNAM por ser ese bálsamo fresco de los lunes y miércoles, gracias al maestro Francisco Bautista (Tata Panchito) por compartir su sabiduría, su energía incansable y su pasión por la vida.

Y los especiales

A esa familia que encontré en Morelia en este último año de estudios me refiero a Mariana Vallejo y Eréndira. Gracias por compartirme un techo, sin su apoyo hubiera sido más difícil culminar esta última etapa. En verdad, disfrute mucho compartir con ustedes la cotidianidad y aprender juntas el valor de la amistad y el compañerismo.

A Atenea Bullen, Teresita Ávila, Luis Domínguez, Angélica Jiménez, Maribel Nava y Ana Paola Martínez, gracias por invitarme a sus proyectos y por proveerme de trabajo cuando más lo necesité.

DEDICATORIA

A mis padres, Felipe Carrillo García y Silvia Saucedo García, por todo su amor, su entrega, sus oraciones y su apoyo incondicional.

A mi querida Tía Ofelia, por enseñarme a ser.

A mis seis hermanos: Felipe, Jorge, Roberto, Luis, Julio y Emmanuel por ser una fuente inagotable de risas, ocurrencias y cariño.

ÍNDICE

Lista de figuras y cuadros.....	- x -
Resumen.....	- xiii -
Abstract.....	- xv -

INTRODUCCIÓN GENERAL.....- 1 -

CAPÍTULO I. Arbuscular mycorrhizal fungal spore communities of a tropical dry forest ecosystem show resilience to land-use change.....- 19 -

CAPÍTULO II. Atributos funcionales de hongos micorrízicos arbusculares del bosque tropical seco en respuesta a la sequía.....- 55 -

CAPÍTULO III. Atributos funcionales de efecto de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en un ecosistema de bosque tropical seco.....- 95 -

DISCUSIÓN GENERAL.....- 137 -

REFERENCIAS.....- 143 -

ANEXOS.....- 149 -

Anexo 1. Sobre tiro del artículo requisito

INDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Introducción General

Cuadro 1. Atributos funcionales que se medirán a nivel de comunidad en este estudio.....	14 -
Figura 1. Modelos propuestos por Koide para entender los caracteres de respuesta y efecto en comunidades de hongos ectomicorrízicos.....	10 -
Figura 2. Muestra los cambios en las condiciones ambientales durante la sucesión del bosque tropical seco.....	12 -
Figura 3. Marco conceptual del trabajo.....	16 -

Capítulo I. Arbuscular mycorrhizal fungal spore communities of a tropical dry forest ecosystem show resilience to land-use change

Table 1. Characteristics and history of use of the study sites in Chamela, Jalisco.....	32 -
Table 2. Similarity matrix for the composition of arbuscular mycorrhizal fungi morphotypes	35 -
Table 3. Results of the resistance and recovery generalized linear mixed models (GLMM) tests performed with richness, diversity and evenness measures.....	36 -
Table S1 Occurrence Frequency, in percentage of the samples, of each species in each site.	53 -
Table S2 Significance of the environmental variables in the Canonical Correspondence Analysis based on soil and environmental variables and AMF species.....	54 -
Figure 1. Map showing the location of the study sites (black dots) and the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (dark gray polygon)	27 -
Figure 2. Hierarchical cluster. Heat map values reflect the occurrence frequency of each species in each site.....	33 -
Figure 3. Total frequency curves or Whittaker plots.....	34 -
Figure 4. Total richness and diversity as a function of the sites successional age.....	37 -
Figure 5. Relative frequencies at different taxonomic levels in relation to the sites successional age, a) at order level, c) at family level.	38 -
Figure 6. Canonical Correspondence Analysis based on soil and environmental variables. 6a) Successional age ordination, 6b) ordination by genera (circles)	40 -
Figure S1. Species accumulation curves for each community. The middle line shows the observed species, dotted lines show their upper and lower confidence values.....	52 -

Capítulo II. Atributos funcionales de hongos micorrízicos arbusculares del bosque tropical seco en respuesta a la sequía

Cuadro 1. Atributos de respuesta analizados en este trabajo.	- 62 -
Cuadro 2. Caracterización de los sitios de estudio y composición del inóculo micorrízico.....	- 66 -
Cuadro 3. Modelos explicativos mas probables con base en el criterio de información de Akaike para muestras pequeñas (AICc).....	- 77 -
Figura 1. Diagrama de las hipótesis.	- 63 -
Figura 2 Modelo de maceta utilizado para este experimento.....	- 67 -
Figura 3 Curva de liberación de agua del suelo realizada experimentalmente con un medidor de potencial hídrico (WP4-T Decagon Devices, Inc. Washington, EUA).....	- 69 -
Figura 4 Plan de muestreo luego de 6 meses de establecimiento de las plantas de <i>Caesalpinia eristachys</i>	- 71 -
Figura 5 Imágenes de las hifas antes de ser analizadas con el programa de WinRhizo, a) fotografía tomada al microscopio 20X, b) imagen obtenida después de la limpieza con Adobe Photoshop CS3 Extended Versión.....	- 73 -
Figura 6 Longitud total del micelio durante las tres fechas de medición.....	- 76 -
Figura 7. Longitud total (m / g de suelo) en función de la edad sucesional para el T1 (34 días) y el T2 (72 días).....	- 78 -
Figura 8. Diámetro promedio (μm) en función de la edad sucesional para el T1 (34 días) y el T2 (72 días).....	- 79 -
Figura 9. Promedios de la proporción de longitud de micelio que se encontró en cada categoría diamétrica.....	- 80 -
Figura 8 Proporción de hifas activas e hifas fragmentadas en función de la edad sucesional para el T0 (Día 0), T1 (34 días) y el T2 (72 días).....	- 81 -
Figura MS1 Porcentaje de humedad ± 1 error estándar del compartimento del micelio durante el experimento.....	- 93 -
Figura MS2 Proporción por categoría diamétrica en función de la edad sucesional para el T1 (35 días) y el T2 (72 días).....	- 94 -

Capítulo III. Atributos funcionales de efecto de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en un ecosistema de bosque tropical seco

Cuadro 1. Lista de atributos de efecto medidos en este capítulo.....	- 101 -
Cuadro 2. Caracterización del inóculo micorrízico y de los sitios de donde se extrajo.....	- 105 -
Cuadro 3. Cronograma de actividades durante el experimento.....	- 106 -
Cuadro 4 Características de las actividades enzimáticas analizadas en este trabajo.....	- 108 -

Cuadro 5 Biomarcadores de ácidos grasos analizados en este trabajo.....	- 109 -
Cuadro 6 Resumen de los modelos lineales mixtos que fueron significativos ($p \leq 0.05$) para las variables de respuesta medidas en el tercer año de muestreo.....	- 113 -
Cuadro MS1 Correlaciones de Spearman entre las variables de respuesta (fracciones de agregados y actividad enzimática potencial).....	- 134 -
Figura 1. Diseño de la maceta del experimento de agregación.....	- 103 -
Figura 2 a) Precipitación promedio mensual y b) temperatura máxima y mínima promedio mensual en la Estación de Biología Chamela para los años de 2012 a 2014.....	- 106 -
Figura 3 Fracciones de agregados estables en agua: a) ≤ 0.25 mm, b) 0.25 a 1.0 mm y c) 1.0 mm y actividad enzimática potencial d) fosfatasa, e) β -glucosidasa y f) proteasa.....	- 114 -
Figura 4 Análisis de redundancia que incluye todas las variables de respuesta (fracciones de agregados y actividad enzimática) y los factores (edad sucesional y compartimento) en relación con la abundancia de marcadores microbianos de ácidos grasos.....	- 116 -
Figura 5 Biomasa de los hongos micorrízicos arbusculares (NLFA) y proporción NLFA:PLFA (Marcador 16: 1 ω 5c).....	- 117 -
Figura MS1 Dinámica de agregación durante los tres años de estudio.....	- 132 -
Figura MS2 Partición de la variación para las variables de respuesta para los modelos de las fracciones de agregados y actividad enzimática.....	- 133 -

Resumen

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son simbios de la mayoría de las plantas que incrementan la absorción de nutrientes del suelo y su transferencia a las plantas y promueven procesos como retención de agua, ciclaje de nutrientes y estabilidad en el suelo. No obstante, pocos estudios abordan sus respuestas a cambios ambientales y sus funciones en los ecosistemas al nivel de comunidad. Durante la regeneración del Bosque Tropical Seco (BTS) posterior al cambio de uso de suelo en la región de Chamela, Jalisco, se producen cambios en la vegetación y en las propiedades físicas y químicas del suelo que pueden afectar la estructura de las comunidades de organismos que lo habitan, como los HMA, y por ende, también sus funciones. El objetivo general de este trabajo fue entender las relaciones entre los cambios en la composición de especies de las comunidades de HMA durante la regeneración natural de un BTS y sus adaptaciones funcionales a través del análisis de algunos atributos funcionales. Se esperaba que los cambios ambientales durante la regeneración del BTS después del uso ganadero extensivo cambiaran la composición de especies y que esos cambios en composición alteraran los atributos funcionales y por tanto las funciones de las comunidades.

En el capítulo I, se analizó la estructura y composición de las comunidades de HMA durante la regeneración natural del BTS para ver si habían cambiado por el uso de suelo en ganadería o durante la regeneración posterior a este uso. Se hizo un muestreo de campo en 10 sitios, que incluyó dos potreros activos, seis parcelas con diferente edad sucesional y dos de bosque maduro, y se analizó la composición de la comunidad de morfoespecies (esporas) de HMA. La comunidad de esporas fue resistente al cambio de uso de suelo como pastizal y mostró cambios menores durante la sucesión una vez que el manejo cesó. Hubo una relación negativa significativa entre la frecuencia de Diversisporales y Glomerales, debido a un recambio selectivo de especies en las familias dominantes Gigasporaceae y Glomeraceae. Sin embargo, esto no estuvo relacionado con el tiempo sucesional. Contrario a lo esperado, las comunidades de HMA no cambiaron por el uso de suelo como pastizales ganaderos y tampoco durante la regeneración por lo que parecen resilientes a este tipo de manejo.

En el capítulo II, examiné si había habido cambios en los atributos funcionales relacionados con la resistencia a la sequía, que es uno de los factores ambientales críticos en el BTS, en las comunidades de HMA de sitios bajo uso ganadero o en regeneración. Esperaba que las comunidades de HMA de condiciones ambientales más secas y extremas, como los potreros ganaderos y sitios en sucesión temprana, mostrarían mayor capacidad para resistir la escasez de agua y mayores cambios en sus atributos funcionales. Se compararon los atributos morfofisiológicos del micelio extraradical de los HMA en dos niveles experimentales de humedad del suelo. De los 10 atributos medidos solo la longitud total del micelio respondió a la reducción de agua. Los demás atributos analizados tuvieron respuestas muy parecidas entre las comunidades de HMA provenientes de diferentes edades sucesionales, lo que indica que responden de manera similar ante la falta de agua.

Finalmente, en el capítulo III, se investigó si había cambios en la contribución de las comunidades de HMA de la regeneración del BTS en dos funciones, la estructuración y el ciclaje de nutrientes del suelo, a través de dos propiedades, la formación de agregados y la capacidad enzimática extracelular potencial. Se esperaba que la contribución de los HMA en ambas propiedades se hubiese reducido por la perturbación constante del uso ganadero y que se recuperaría con el tiempo sucesional. Se realizó un experimento separando los efectos de la rizósfera y la hifósfera y se midieron tres categorías de agregados estables y las actividades enzimáticas fosfatasa, proteasa y β -glucosidasa. La hifósfera de los HMA fue la que más contribuyó al proceso de agregación, sobre todo en la fracción de agregados >1 mm, pero sin relación con la edad sucesional de las comunidades, mientras que la rizósfera y la edad sucesional se relacionaron positivamente con la actividad enzimática de la fosfatasa y β -glucosidasa. Sin embargo, los efectos de la edad sucesional de las comunidades de HMA en las funciones evaluadas fueron mínimos.

Los tres estudios realizados revelaron que, contrario a lo que se esperaba, las comunidades de HMA mostraron resistencia al uso de suelo ganadero y no cambiaron ni su composición filogenética básica, ni sus atributos funcionales, ni sus funciones a través del gradiente sucesional que se estudió. Esto es evidencia de que las comunidades de HMA del BTS en Chamela, Jalisco, son resilientes al cambio de uso de suelo de bosque a pastizales con ganadería extensiva.

Abstract

Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) are symbionts of the majority of plants that increase soil nutrient uptake and transfer to plants, and promote processes like soil water retention, nutrient cycling and stability. Nevertheless, few studies have addressed their responses to environmental changes and their functions in ecosystems at the community level. Vegetation and physical and chemical soil properties changes along natural regeneration of the tropical dry forest (TDF) after land-use change in the Chamela region in Jalisco, Mexico, may have affected community structure and function of the organisms that inhabit it, such as AMF. This study aimed at understanding the relations between changes in AMF community composition along the natural regeneration of TDF and their functional adaptations through the analyses of some functional traits. The overall hypothesis was that the environmental changes after extensive cattle ranching and successional time would change species composition and these changes in species composition would in turn alter functional traits and thereby also community function.

In chapter 1, AMF community structure and composition were analyzed along the TDF successional gradient to evaluate if they had changed due to land use as ranching or during the subsequent regeneration time. The analysis included two active pastures, six successional sites with different age and two primary forest sites and was based on the community of AMF morphospecies (spores). Spore communities were resistant to land use as pastures and showed minimal changes along successional time after pasture management. There was a negative relation between the frequencies of Diversisporales and Glomerales, due to a selective species turnover within the dominant families Gigasporaceae and Glomeraceae. This result was however not related to successional time. Contrary to the expected, AMF communities did not change due to land use as pastures or during regeneration time and thus seem resilient to management as pastures.

In chapter II, I examined if there had been changes in the functional traits related to resistance to drought, one of the critical environmental factors in TDFs, within the AMF communities under pasture use or regeneration. I expected that AMF communities from more extreme and dry conditions, such as pastures and early successional sites, would

show higher capacity to withstand water scarcity and higher changes in their functional traits. I compared the AMF extraradical mycelium morphophysiological traits at two experimental soil humidity levels. Of the ten measured traits, only the total mycelium length responded to the reduction of water. The other analyzed traits had very similar responses among AMF communities from different successional ages, which indicates that they respond in a similar way to water scarcity.

Finally, in chapter III, I investigated if there had been changes in the contribution of AMF communities from natural regeneration of TDF in two functions, soil structuring and nutrient cycling, through two properties, their capacity to form stable aggregates and to promote potential extracellular enzymatic activities. The hypothesis was that the contribution of AMF to both properties had been reduced by the constant disturbance of pasture use and that this contribution would recover with successional time. I set up an experiment separating rhizosphere and AMF-hyphosphere effects on the formation of three categories of water-stable soil aggregates and on the production of three enzymatic activities, phosphatase, protease and β -glucosidase. The AMF hyphosphere was the largest contributor to soil aggregation, especially the fraction $> 1\text{mm}$, but with no relation to AMF community successional time. The rhizosphere and successional time were, on the other hand, positively related to phosphatase and β -glucosidase enzyme activities. The effects of AMF community successional age on both functions were overall minimal.

The three studies revealed that, contrary to the expected, AMF communities showed resistance to pasture management and did not change their basic phylogenetically composition, their morpho-physiological traits, or their functions across the successional gradient examined. This is evidence suggesting that the AMF communities of TDF in Chamela, Jalisco, are resiliente to land-use change from forest to extensive cattle ranching pastures.

INTRODUCCIÓN GENERAL

Silvia Margarita Carrillo Saucedo

“Cuando un joven naturalista emprende el estudio de un grupo de organismos desconocidos para él, al principio está demasiado perplejo para establecer las diferencias que hay que considerar [...], pues desconoce el grado y el tipo de variación al que ese grupo está sujeto”.

Darwin, el origen de las especies
(En: La evolución de Calpurnia Tate, por Jacqueline Kelly)



a) *La transformación de los bosques tropicales*

Una de las principales amenazas para la conservación de los bosques es la deforestación debida al cambio de uso de suelo para actividades agrícolas y ganaderas (FAO, 2016). Globalmente se pierden 3.3 millones de ha anuales de bosque, principalmente en los trópicos (FAO, 2016). En México, de 2005 a 2010 se perdieron 155,000 ha de bosques, cuyo mayor impacto fue en las zonas de bosque tropical (CONAFOR, 2010).

No obstante, los bosques pueden ser sistemas resilientes si tienen la capacidad para persistir o mantener su función luego de enfrentar un disturbio, i. e. deforestación, que les permite regresar a una etapa similar a su estado pre-disturbio (Holling, 1993; Levin, 1998). La resiliencia es posible cuando sus propiedades ecológicas *resisten* o permanecen sin cambios notables después del disturbio o cuando no resisten pero se *recuperan* (Hodgson et al., 2015).

b) *La sucesión secundaria*

La sucesión secundaria es el proceso de cambio que se da en una comunidad ecológica luego de un disturbio, i. e. deforestación (Chazdon, 2014), y genera mosaicos de bosques con diferentes edades sucesionales en los cuales se pueden haber alterado diversas propiedades o variables del ecosistema (Brown & Lugo, 1990; Kramer, 1997). Dentro de estos mosaicos sucesionales ocurre la regeneración natural, que se refiere al rebrote o al restablecimiento de las propiedades de una especie, una población, un parche, una parcela, dentro de un ecosistema (Chazdon, 2014). Actualmente, los bosques secundarios representan el 74% de los bosques naturales (FAO, 2016), por lo que resulta vital entenderlos para mantener la biodiversidad, funciones y servicios ecosistémicos (Lohbeck, 2014).

Mientras ocurre la sucesión secundaria posterior al abandono de las actividades humanas, la cobertura vegetal, las propiedades del suelo, así como el microambiente cambian y con el paso del tiempo pueden recuperarse y llegar a sus condiciones originales (Chazdon, 2014; Lebrija-Trejos et al., 2008, 2010, 2011 a, b; Martínez-Ramos et al., 2012; Pineda-García et al., 2013; Mora-Ardila et al., 2015). Esto lleva a que entre las diferentes etapas sucesionales exista una alta heterogeneidad, la cual impone fuertes filtros sobre el establecimiento, crecimiento y supervivencia de las especies (Chazdon, 2014).

Debido a las dificultades para analizar los cambios de un sitio a través de un periodo largo de tiempo, se utiliza la aproximación de la cronosecuencia, que es el reemplazamiento de tiempo por espacio (Quesada et al., 2009). Dicho enfoque, permite estudiar simultáneamente sitios con condiciones fisiográficas similares, pero que han llegado a tener diferentes edades sucesionales para de esta forma entender la dinámica de la heterogeneidad ambiental sobre los organismos.

c) *Atributos funcionales*

La sucesión secundaria es, también, un proceso que implica cambios secuenciales en los atributos funcionales de una comunidad, i. e. productividad (Chazdon, 2014). Una manera de entender cómo un gradiente ambiental heterogéneo influye en el desempeño de los organismos en un ecosistema es a través del estudio de sus atributos funcionales (McGill et al., 2006).

Un atributo funcional se define como una característica morfológica, fisiológica o de historia de vida que puede ser medida en los seres vivos y que se encuentra relacionada con un efecto sobre uno o varios procesos ecológicos o con una respuesta a uno o varios factores ambientales (Díaz & Cabido, 2001; Lavorel et al., 2007; Violle et al., 2007). El

estudio de los atributos funcionales nos ayuda a entender el éxito o fracaso de las especies en un ambiente particular (Naeem & Wright, 2003) y a determinar cómo las especies contribuyen a los procesos del ecosistema (Petchey & Gaston, 2006).

Los atributos funcionales se dividen en dos tipos, los atributos de respuesta y los de efecto. Los *atributos funcionales de respuesta*, son aquellas características que nos dicen cómo responde el organismo al ambiente (Violle et al., 2007). Estos atributos reflejan la habilidad funcional de las especies para mantenerse en las distintas condiciones ambientales (Chazdon et al., 2007) como consecuencia de la heterogeneidad ambiental. La heterogeneidad actúa como un filtro en el desempeño de las especies que viven en una condición particular (McGill et al., 2006). En cambio, los *atributos funcionales de efecto* son aquellos relacionados con la contribución y/o efecto de los organismos en el ecosistema (Violle et al., 2007). Estos atributos son indicadores del aporte de los organismos en el funcionamiento del ecosistema (Díaz et al., 2007).

Actualmente, la ecología funcional plantea identificar aquellos atributos que afectan tanto la capacidad de las especies para persistir durante el cambio ambiental (*de respuesta*), como su influencia en el ambiente (*de efecto*) con el fin de establecer un puente que conecte el ensamblaje de una comunidad con el funcionamiento del ecosistema (Lavorel & Garnier, 2002). El desarrollo de este marco conceptual de respuesta-efecto permite escalar del nivel de organismo o especie a un nivel ecológico mayor como la comunidad (Suding et al., 2008; Sapijanskas & Loreau, 2010). Para esto, es necesario entender las características funcionales de la comunidad (atributos de respuesta y efecto) y encontrar procesos críticos que ayuden a establecer predicciones en los procesos ecosistémicos (Suding & Goldstein, 2008; Gross et al., 2008).

d) *Atributos funcionales en comunidades de hongos micorrízicos arbusculares*

El estudio de atributos funcionales se ha llevado a cabo principalmente en comunidades vegetales, donde se han establecido protocolos estandarizados para mejorar su interpretación ecológica (Cornelissen et al., 2003; Kattge et al., 2011; Pérez-Harguindeguy et al., 2013). Sin embargo, estos esfuerzos se centran en atributos medidos sobre el suelo, lo que hace evidente la falta de estudios en los atributos subterráneos (Bardgett et al., 2014), a pesar de la importancia que tienen las raíces y sus simbiontes en la captura y movilización de nutrientes del suelo (Laliberté, 2017).

Un grupo poco estudiado bajo este enfoque funcional es el de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA); la información sobre sus atributos es escasa y está dirigida a los beneficios que proveen a las plantas (van der Heijden & Sheuβlin, 2007; Laliberté, 2017). Los HMA son hongos pertenecientes al phylum Glomeromycota que viven en asociación simbiótica con las raíces del 74% de las plantas vasculares (Brundrett 2009). Estos organismos se caracterizan porque presentan dos fases de crecimiento, una dentro de la raíz (micelio intraradical) donde las hifas penetran las células corticales y forman estructuras características (arbúsculos) u ovillos hifales y vesículas, y la otra fuera de la raíz (micelio extraradical) que se encarga de explorar el suelo (Smith & Read, 2008).

La gran mayoría de los trabajos con HMA han estudiado la fase que se desarrolla dentro de la raíz, que es la parte que se encarga del intercambio de nutrientes entre la planta y el hongo. Se ha encontrado, por ejemplo, que las plantas micorrizadas tienen una mejor respuesta al estrés (ambiental, enfermedades, patógenos), la cual es favorecida por un aumento en la capacidad de absorción de nutrientes, un incremento en la transferencia de

nutrientes, un aumento en la estabilidad del suelo del área circundante (Johnson et al., 2006; Johnson & Gehring, 2007; Garg & Chandel, 2010), entre otras.

La biomasa principal de estos hongos la constituye el micelio que se desarrolla fuera de la raíz (micelio extraradical), el cual se encarga de explorar el suelo en busca de nutrientes y agua (Smith & Read, 2008). Las funciones que desempeña el micelio extraradical de los HMA pueden verse reflejadas en distintos procesos ecológicos (Finlay 2008). Durante su paso a través del suelo, el micelio extraradical une las partículas minerales por los exudados que secreta y libera gran cantidad de enzimas extracelulares que rompen los enlaces de los compuestos químicos (Rillig & Mummey, 2006). Esta forma de crecimiento contribuye a la estabilidad del suelo y al reciclaje de nutrientes (Caruso & Rillig, 2011; Rillig & Mummey, 2006; Garg & Chandel, 2010). Los beneficios van desde una escala individual como la nutrición del hongo y la planta, hasta una escala ecosistémica o global donde la formación de agregados y/o la estabilidad del suelo permiten el almacenamiento de C y de otros nutrientes (Johnson et al., 2006).

Recientemente, el enfoque funcional ha cobrado relevancia (van der Heijden & Sheublim, 2004, 2007; Maherali & Klironomos, 2007, 2012; Chagnon et al., 2013) y plantea la necesidad de desarrollar un marco propio para los HMA (Treseder & Lennon, 2015; Powell & Rillig, 2018) debido a las peculiaridades del grupo. Dentro de las peculiaridades destacan su alta variabilidad intraespecífica (Munkvold et al., 2004) y a su vez la conservación de ciertos atributos a nivel de familia (Maherali & Klironomos, 2007), su forma de vida simbiote (Smith & Read, 2008), la dificultad para diferenciar a las especies por criterios morfológicos (van der Heijden et al., 2004), entre otras. Estas características hacen que el estudio de los atributos funcionales no se lleve a cabo de la misma forma como se hace con las plantas,

lo que hace necesario desarrollar un marco funcional micocéntrico. Es decir que es necesario ver a los HMA como organismos que han desarrollado atributos que maximizan su propio desempeño en diferentes ambientes y no solo como los que mejoran la vida de las plantas (Chagnon et al., 2013).

Este panorama plantea diferentes retos. Por una parte requiere establecer experimentalmente atributos útiles a nivel de especie en los HMA (van der Heijden & Sheublim, 2007) y asociarlos con procesos particulares del ecosistema (Chagnon et al., 2013). Por otra parte, requiere estudiarlos a nivel del desempeño de la comunidad de HMA, ya que las especies no se encuentran solas e interactúan, y esto puede hacerse con arreglos experimentales o directamente en el campo, y analizar atributos morfológicos, bioquímicos y/o anatómicos que den cuenta del papel funcional de estos hongos en el ecosistema (Rillig & Powell, 2018).

Koide et al. (2013) desarrollaron un modelo conceptual para ayudar a entender cómo se conforman las comunidades en otro tipo de hongos micorrízicos (hongos ectomicorrízicos) desde un enfoque funcional. El modelo propone que un cambio ambiental a veces tiene efectos directos sobre las funciones del ecosistema, como cuando ocurre un cambio drástico derivado de un incendio o una inundación y muchos de los organismos que realizaban esas funciones fenecen sin dar tiempo a un proceso de selección (**Figura 1**, flecha segmentada). En otras ocasiones el cambio sí permite pasar por un proceso paulatino de selección de las especies que depende de sus atributos funcionales para adaptarse a las nuevas condiciones (**Figura 1**, flecha sólida). En este último caso, el cambio ambiental selecciona diferentes caracteres de respuesta de los hongos, de forma que solo persisten aquellos cuyos atributos funcionales les permitieron adaptarse al cambio

ambiental (**Figura 1a**). El efecto sobre las funciones del ecosistema es indirecto porque pasa por ese proceso de selección que cambia la estructura de la comunidad. Dado que los atributos funcionales de las especies son múltiples, el conjunto de atributos funcionales resultante de la nueva comunidad puede ser distinto, al igual que sus efectos sobre las funciones del ecosistema (**Figura 1a**). Koide et al. (2013) proponen además un segundo modelo en el cual el cambio en la estructura de la comunidad de hongos es el resultado del proceso de interacción de los atributos de respuesta a los cambios ambientales con los caracteres de efecto, que generan un cambio en las funciones del ecosistema (**Figura 1b**).

Por ejemplo, en hongos, un atributo que mide su respuesta al estrés hídrico es la producción de melanina (*respuesta*), un pigmento que protege la pared celular. Este pigmento, es también recalcitrante así que su presencia en el suelo influye en las tasas de descomposición de C (*efecto*). Entonces, en un ambiente con baja disponibilidad de agua los hongos que producen melanina serán los que dominen la comunidad y por lo tanto, medien la tasa de descomposición de C (Koide et al., 2013). Es decir, puede existir una retroalimentación (**Figura 1b**, cuadro verde) entre los atributos de respuesta y efecto que estaría conformando, con el tiempo, a la comunidad en conjunto con el cambio ambiental que dio inicio a todo el proceso de cambio.

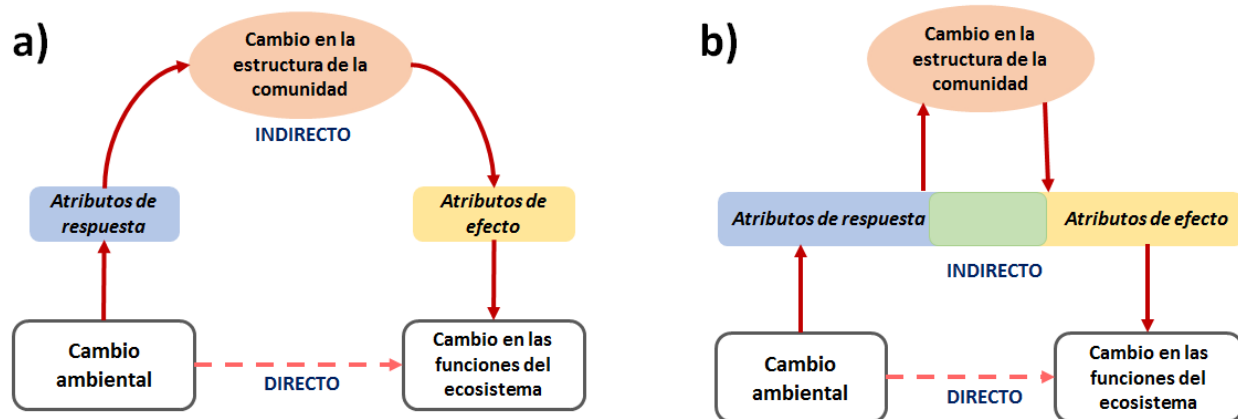


Figura 1. Modelos propuestos por Koide et al. (2013) para entender los caracteres de respuesta y efecto en comunidades de hongos ectomicorrízicos.

e) *El bosque tropical seco y sus características*

El bosque tropical seco (BTS) representa el 42% de los bosques tropicales del mundo (Miles et al., 2006). Se caracteriza por presentar una estación seca con duración de tres a seis meses (Murphy & Lugo, 1986). Además, alberga una alta diversidad biológica, fisiológica y estructural con un alto número de especies endémicas (Mooney et al., 1995; Sánchez-Azofeifa et al., 2005, Banda et al., 2016). Sin embargo, es uno de los ecosistemas más amenazados y presenta globalmente poca superficie conservada (Miles et al., 2006).

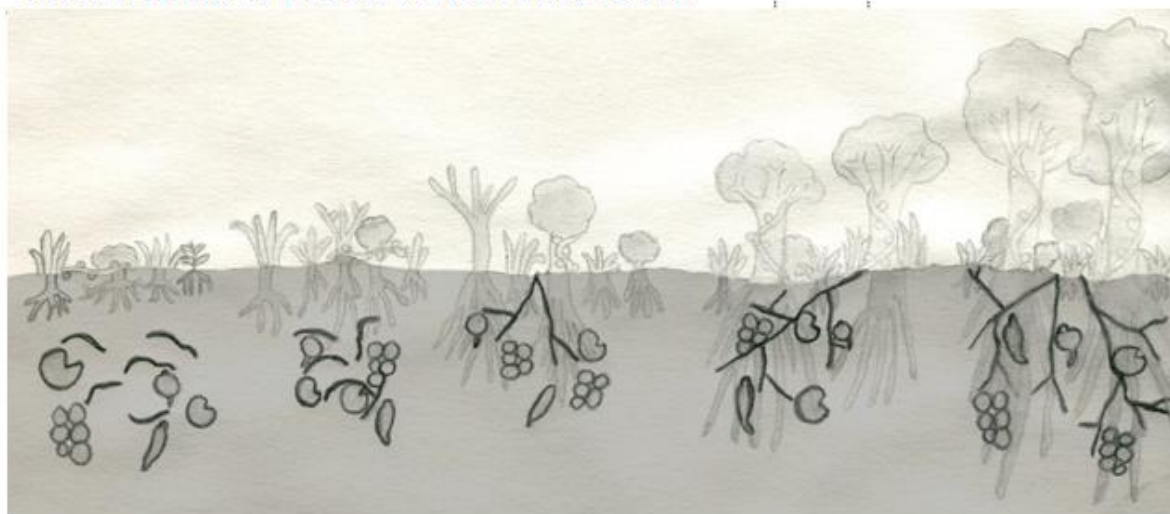
En nuestro país, este ecosistema se distribuye principalmente a lo largo de la costa del Pacífico y la península de Yucatán, con algunos remanentes en el Golfo de México. El 38% de los BTS de América se encuentra aquí y solo se protege al 0.2% de estos bosques; cifras recientes indican que el 71% del BTS ha sido transformado por el cambio de uso de suelo (Portillo-Quintero & Sánchez-Azofeifa, 2010). La Reserva de la Biósfera Chamela-Cuixmala en Chamela, en la costa de Jalisco, protege la mayor extensión en México de este tipo de ecosistema (132.42 km²), que además de poseer una alta diversidad biológica

provee de servicios ecosistémicos tanto a nivel local como global (Maass et al., 2005; Castillo et al., 2005).

En el BTS, el agua es el factor más limitante porque es altamente variable e impredecible (Maass & Burgos, 2011; Maass et al., 2018), limita o controla prácticamente a casi todos los procesos fisiológicos de los organismos (Williams & Rice, 2007) y condiciona los procesos funcionales del ecosistema como la productividad primaria, la fertilidad del suelo y descomposición de la materia orgánica (Martínez-Yrizar, 1995; Jaramillo, 2003; Powers, 2009; Anaya et al., 2012; Jaramillo et al., 2018, Martínez-Yrizar et al., 2018; Parker et al., 2018).

Los esfuerzos más importantes para entender la dinámica de regeneración natural del BTS después de un disturbio se han centrado en los cambios que ocurren en la vegetación (Lebrija-Trejos et al., 2008; Maza-Villalobos et al., 2011 a, b; Mora-Ardila et al., 2015) y en el microambiente (Lebrija-Trejos et al., 2011; Páramo, 2009; Pineda-García et al., 2013) de las diferentes coberturas que derivan del cambio de uso de suelo (**Figura 2**). Además, estudios recientes muestran que algunas de las propiedades del suelo, como por ejemplo la densidad aparente y los agregados, son resilientes, es decir se recuperan o resisten (Ayala-Orozco et al., 2017). Las características anteriores dan cuenta de la alta heterogeneidad ambiental que se manifiesta entre las diferentes etapas sucesionales (**Figura 2**).

Características	Tipo	Referencia
Cambios arriba del suelo		
La riqueza y la densidad de especies vegetales leñosas va en aumento con la edad sucesional	C	Maza-Villalobos et al., 2011a, b; Mora et al 2015
La cobertura de especies vegetales herbáceas disminuye con la edad sucesional	EC	Ocampo-Domínguez, 2009
La disponibilidad de luz y la apertura del dosel disminuye con la edad sucesional	EC	Magaña, 2005
La temperatura relativa del aire disminuye con la edad sucesional La humedad relativa del aire aumenta con la edad sucesional	C	Lebrija-Trejos et al., 2011



Cambios bajo el suelo

La temperatura relativa del suelo disminuye con la edad sucesional	C	Lebrija-Trejos et al., 2011
El potencial hídrico del suelo aumenta con la edad sucesional	C	Lebrija-Trejos et al., 2011
El fósforo disponible es menor en etapas sucesionales iniciales	EC	Sandoval-Pérez et al 2009
La actividad de la fosfatasa (enzima) es mayor en acahual y bosque	EC	Chávez-Macedo 2014
El porcentaje de agregados totales es mayor en acahual y bosque	EC	Chávez-Macedo 2014
Disminuye la actividad microbiana y los nutrientes en la conversión de bosque a potrero	EC	García-Oliva & Mass, 1998; García-Oliva et al., 1999

Gradiente sucesional heterogéneo en el que suponemos que las condiciones mas adversas se encuentran durante el manejo y al inicio de la sucesión

Figura 2. Muestra los cambios en las condiciones ambientales durante la sucesión del bosque tropical seco. Tipo, a la forma en que se evaluaron los datos, C = Cronosecuencia con diferentes edades sucesionales, EC = Etapas contrastantes de la sucesión.

f) *Las comunidades de HMA y la sucesión*

Tradicionalmente los estudios sobre comunidades de HMA en la sucesión se han enfocado en el estudio de la composición de especies. Por ejemplo, el análisis de la composición y la estructura (Cuenca et al., 1998); el impacto del cambio de uso de suelo sobre la composición y viabilidad de propágulos micorrízicos (Aguilar, 2000; Guadarrama et al., 2007); la respuesta de las comunidades de HMA a las propiedades del suelo (Beena et al., 2000; Alvarez-Santiago 2002) y a la disponibilidad de nutrientes (Johnson, 2010), al efecto de la comunidad de HMA sobre la estructura de la vegetación (Gange et al., 1993; Zangaro et al., 2003), entre otros.

Si bien estos esfuerzos han dado pautas sobre la importancia de los HMA durante la sucesión, hace falta incorporar el enfoque funcional que ayude a entender cómo estos hongos responden a los cambios ambientales y cuál es el efecto que tienen esos cambios en sus funciones en las diferentes edades sucesionales del BTS. Esta tesis plantea la medición de diferentes atributos (**cuadro 1**) a nivel de la comunidad de HMA. Bajo este enfoque se asume que la medición integra la respuesta y el efecto del atributo como resultado de la interacción de toda la comunidad de HMA con su ambiente.

Cuadro 1. Atributos funcionales que se medirán a nivel de comunidad en este estudio. La información relacionada con su medida se basó en los trabajos de: Saito et al 1993; Olson 1999; Dodd et al., 2000; Dighton, 2003; van der Heijden & Sheublim, 2007; Chagnon et al., 2013; Lehmann et al., 2016.

Atributo funcional	Medida de	Indicador de
A) Atributos de respuesta		
Longitud total del micelio	La extensión del micelio en el suelo	Crecimiento
Diámetro promedio	El grosor del micelio	Estado nutricional y de estrés
Estructura del micelio	La proporción de hifas de diferentes categorías diamétricas	Hifas especializadas en la absorción
✓ Hifas finas y muy finas		Hifas especializadas en la exploración
✓ Hifas medianas y semigruesas		
✓ Hifas gruesas y muy gruesas		
Vitalidad y/o actividad del micelio	La cantidad de micelio vivo de una muestra	La respiración del hongo
Fragmentación del micelio	La proporción del reacomodo del protoplasma del micelio activo	El estrés por condiciones ambientales
B) Atributos de Efecto		
Categorías de agregados	La proporción de diferentes categorías de agregados	La unión de meso y microagregados por la acción física y química de la biota
✓ Fracción > 1.0 mm		
✓ Fracción 0.25 a 1.0 mm		La unión de partículas por fuerzas químicas y agentes cementantes con compuestos orgánicos
✓ Fracción < 0.25 mm		
Actividad enzimática potencial	La actividad metabólica potencial de un suelo	La disponibilidad de P en el ambiente
✓ Fosfatasa		La degradación de carbohidratos
✓ β - Glucosidasa		La descomposición progresiva del N
✓ Proteasa-Caseína		
Biomasa de ácidos grasos	La cantidad de biomasa viva de diferentes grupos microbianos	La composición y abundancia de grupos funcionales microbianos
Cociente PLFA:NLFA Marcador 16:1 ω 5	La cantidad de biomasa de los marcadores específicos para HMA	La disyuntiva funcional entre el C almacenado en reservas (NLFA) y el de crecimiento (PLFA)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la región de Chamela, Jalisco, el principal detonador de cambios ambientales es actualmente el cambio de uso de suelo y de cobertura vegetal (Trejo & Dirzo, 2000; Quesada et al., 2009; Martínez-Ramos et al., 2012). La conversión de BTS, el ecosistema dominante en la región, a parcelas agropecuarias que eventualmente se abandonan, pasan un tiempo en regeneración y se vuelven a trabajar, lo que genera un mosaico de áreas con diferentes coberturas. Las diferentes coberturas aumentan la heterogeneidad ambiental y constituyen un filtro ambiental que puede promover la prevalencia de ciertos atributos funcionales de respuesta, y conformar las comunidades de HMA que se desarrollan en cada cobertura. Por otra parte, las comunidades de HMA conformadas podrían tener efectos distintos sobre las funciones del ecosistema (**Figura 3**).

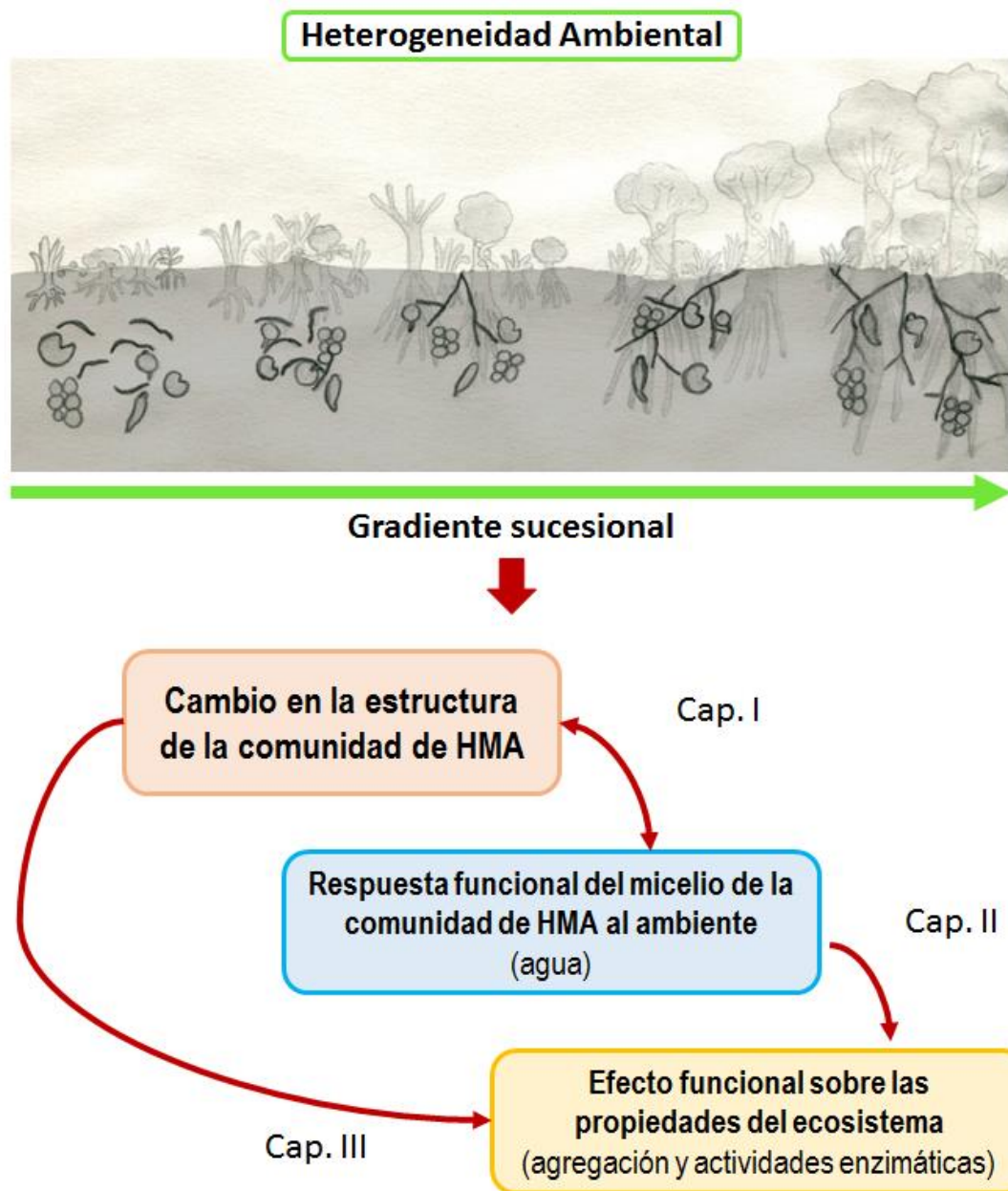


Figura 3. Marco conceptual del trabajo. El cambio de uso de suelo, su manejo y la sucesión generan heterogeneidad ambiental. La heterogeneidad ambiental puede tener efecto sobre la composición y estructura de las comunidades de HMA así como en sus respuestas a la falta de agua (condición común en la región). Estas comunidades pueden a su vez tener un efecto funcional sobre dos propiedades del ecosistema la agregación y la actividad enzimática potencial del suelo.

PREGUNTA GENERAL DE INVESTIGACIÓN

En el contexto de la regeneración del Bosque Tropical Seco, posterior al abandono de las actividades agropecuarias, ¿podemos encontrar comunidades de HMA asociadas a cada tipo de cobertura que nos ayuden a entender sus respuestas a los cambios ambientales como la disponibilidad de agua del suelo y su efecto en las funciones del ecosistema como la agregación del suelo o la actividad enzimática potencial?

PREGUNTAS PARTICULARES

- I. ¿Cómo cambia la estructura y composición de las comunidades de HMA y cómo se relacionan con cambios en las propiedades del suelo a través de la sucesión?
- II. ¿Cómo cambian los atributos de respuesta del micelio extraradical de las comunidades de HMA ante condiciones de humedad contrastantes a través de la sucesión?
- III. ¿Cuál es el efecto de las comunidades de HMA sobre la agregación y la actividad enzimática potencial a través de la sucesión?

HIPÓTESIS GENERAL

El mosaico sucesional ocasionado por el cambio de uso de suelo y el abandono genera heterogeneidad ambiental. Por lo tanto, se espera que la *heterogeneidad ambiental* sea un filtro que seleccione a las especies de hongos micorrízicos arbusculares que permanecerán en cada edad sucesional. Los cambios en la conformación de las comunidades de HMA en cada edad sucesional se relacionarán con cambios en los atributos funcionales (*atributos de respuesta*) en respuesta a factores ambientales relevantes como la humedad y con

efectos en las funciones que realizan los HMA como la agregación del suelo y la actividad enzimática potencial (*atributos de efecto*), en el bosque tropical seco de Chamela.

PRESENTACIÓN DE LA TESIS

La presente tesis consta de cinco partes: la introducción general presentada anteriormente, tres capítulos de investigación y un capítulo de discusión general. En la introducción general se abordó brevemente el estado del arte en cuanto al estudio de los atributos funcionales de los HMA y la importancia de estudiarlos en un contexto sucesional a nivel comunidad. El capítulo I presenta la estructura y diversidad de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en diferentes estadios sucesionales del bosque tropical seco y analiza si la conformación de estas comunidades está determinada por las propiedades del suelo. Este capítulo contiene el artículo requisito para obtener el grado. El capítulo II explora las respuestas de atributos funcionales del micelio extraradical a dos condiciones de humedad y analiza si estas respuestas pueden deberse a diferentes estrategias de las comunidades de HMA provenientes de diferentes edades sucesionales. El capítulo III analiza el efecto de las comunidades de HMA y de los microorganismos del suelo asociados a las comunidades de HMA en el proceso de agregación y la actividad enzimática potencial del suelo. Finalmente, en la discusión general se sintetizan los resultados y se dan las conclusiones de esta tesis.

CAPÍTULO I

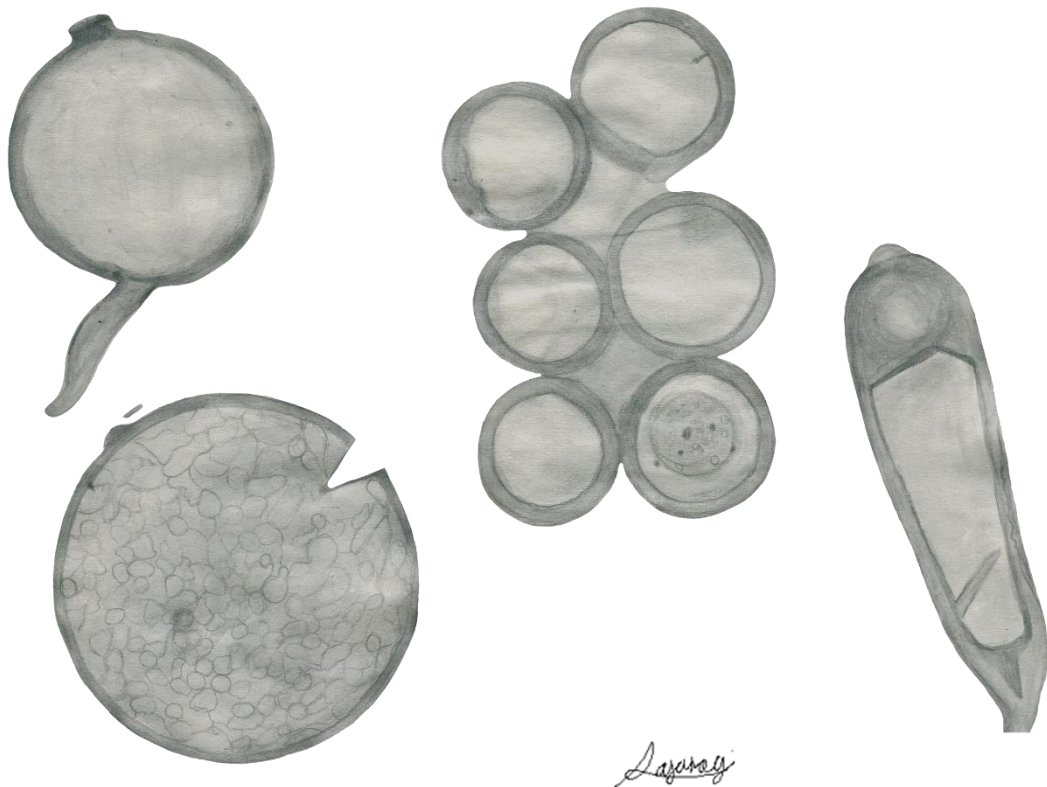
ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGAL SPORE COMMUNITIES OF A TROPICAL DRY FOREST ECOSYSTEM SHOW RESILIENCE TO LAND-USE CHANGE

Silvia Margarita Carrillo-Saucedo, Mayra E. Gavito, Ilyas Siddique
Artículo requisito, publicado en: Fungal Ecology (2018) 32:29-39

Anexo 1

“No existe un solo momento en que él bosque no le hable a uno, en sus distintas voces, de su constante evolución.”

Bruno Traven
(En: El Visitante Nocturno)



Abstract

We explored the resilience of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities of a tropical dry forest ecosystem to land use as pastures. We compared spore community species richness, composition, abundance, and similarity between old-growth forests and active pastures, as a measure of resistance and examined the trajectory of change in successional fields when pasture use stopped to evaluate recovery. Despite a few changes in species richness, community composition and structure were strikingly similar in all sites, including the active pastures. The spore communities were considered resistant to land use as pastures and showed minor changes along succession when management stopped. We found a significant negative relation between the frequency of Diversisporales and Glomerales indicating a selective species turnover driven mainly by the families Gigasporaceae and Glomeraceae. This was, however, unrelated to land use or successional time. These results suggest the AMF communities of this ecosystem seem resilient to management as pastures.

Keywords: composition; diversity; Glomeromycotina; pasture; richness; soil; succession, resilience.

INTRODUCTION

Tropical dry forests are among the most threatened ecosystems in the world and have lost at least 60% of their original cover as a consequence of conversion to agriculture and pastures (Miles et al., 2006). Conversion and management usually alter soil (García-Oliva et al., 1999, 2002; Cotler & Ortega-Larrocea, 2006; Sandoval-Perez et al., 2009), vegetation (Mora et al., 2014; Trilleras et al., 2015), and environmental conditions (Lebrija-Trejos et al., 2011; Pinzon-Perez, 2013), at least temporarily. Plant productivity usually starts to decline after some years of management and eventually leads to land abandonment and secondary succession in the abandoned fields (Burgos & Maass, 2004). As a result, the landscape turns into a mosaic of fields containing active agriculture and pastures, secondary vegetation of different ages, and primary vegetation (Gavito et al., 2008).

Resilience is the capacity of an ecosystem, or its components, functions or processes, to withstand disturbance by resisting, reorganizing while undergoing change and recovering, so as to retain essentially the same function, structure, identity, and feedback (Holling, 1973). The components or properties of an ecosystem are resilient when they are resistant to a change in their environment or when they are altered but recover when this change ends. Both, resistance and recovery are complementary measures of resilience that can be assessed with analytical tools (Hodgson et al., 2015). Species richness and composition of some plant and animal communities in tropical dry forest ecosystems were not altered by land conversion and management while others changed but showed a return to pre-conversion levels, usually within a few decades, through natural regeneration in abandoned fields (Lebrija-Trejos et al., 2008; Maza-Villalobos et al., 2011a,b; Villa-

Galaviz et al., 2012; Mora et al., 2014; Suazo-Ortuño et al., 2015). Those studies based on land-cover comparisons suggested an overall resilience of different organisms to the changes originated by land-use change and management practices. A recent resilience assessment made for vegetation and soil properties (Ayala-Orozco et al., 2017) showed indeed that the majority were resilient to land-use change. The resilience of communities of soil organisms, however, has been poorly studied in this highly dynamic process of continuous environmental transformation (Falconer et al., 2015).

The Glomeromycotina are soil fungi of special interest because of their symbiotic interaction with the majority of plants (Schübler et al., 2001) and their influence on plant nutrition (Jakobsen, 1998), plant diversity (Van der Heijden, 2002), nutrient cycling and soil structure (Rillig & Mummey, 2006). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) distribution, development and survival are influenced by environmental factors such as fertility, humidity, compaction, and temperature in soil, as well as topography, altitude and latitude (Camargo-Ricalde, 2002). Additionally, there are also important biotic factors such as host compatibility and dispersal capability (Smith & Read, 2008). AMF community composition is redefined continuously in response to the environment and functional characteristics of the species present (Kivlin et al., 2011).

Land-use change and land management are drivers of environmental changes that may lead to new species arrangements in AMF communities, depending on the type, intensity and duration of the environmental alterations and on the AMF species functional traits (Koide et al., 2013). AMF exhibit functional traits like the proportion of mycelium development inside and outside the roots, or P transfer capacity to plants, which seem to be preserved at the family level (Hart & Reader, 2002). Understanding the changes in community composition may help to predict what species will stay or disappear after an

environmental change (Xiang et al., 2014) and the consequences of the departure or arrival of species on the functions AMF perform in ecosystems (Maherali & Klironomos, 2007).

Despite the importance of AMF for ecosystem functioning (Johnson et al., 2006), the resilience of AMF communities to recurrent and long-term disturbance pressure, such as land-use change, is still unknown. Several studies have documented changes in AMF communities under various land covers resulting from land-use change in temperate (Lumini et al., 2010; Oehl et al., 2010; Cortes-Gonzalez et al., 2012) and tropical (Gavito et al., 2008; Stürmer & Siqueira, 2011; Pereira et al., 2014) ecosystems. Although comparison of land cover may give some indications of resilience, no study to our knowledge has explicitly explored the resilience of AMF communities to land-use change and pasture management in tropical dry forests.

This study evaluated the resilience of AMF spore communities to land-use change by examining the resistance of undisturbed tropical dry forest communities to pasture management and their recovery through successional time after management stopped. We: (1) characterized the structure and composition of AMF in a group of sites including active pastures, successional fields of different ages and old-growth forests; (2) compared AMF spore community species richness, composition, abundance, and similarity between old-growth forests and active pastures, as a measure of resistance to land conversion and pasture management, and examined the trajectory of change in successional fields to evaluate recovery after pasture management; and (3) explored if differences in soil and environmental properties were associated with differences in AMF community composition in the land covers examined. We hypothesized that AMF communities of this ecosystem would be resilient to land-use change mainly due to a rapid recovery after

management ceased. We expected that, given the significant alterations in plant communities during pasture management, AMF communities would not be resistant to this land-use change but would recover rapidly as has been shown for soil properties and plant and animal communities of this tropical dry forest ecosystem when management stops.

MATERIALS AND METHODS

The study area is located on the Pacific coast (**Fig. 1**) in the state of Jalisco, in Mexico (19°29' N, 105°01' W). This is a tropical dry forest ecosystem with a mean annual temperature of 25 °C and mean annual rainfall of 746 mm concentrated between June and October (García-Oliva et al., 2002). Soils of the region are usually Regosols and characterized as poorly developed and shallow (Cotler et al., 2002).

We used a group of sites that included two active pastures with more than 15 y under this land use, six sites with secondary vegetation of different successional age ranging from 6 to 34 yr, and two old-growth forests (OGFs) to analyze AMF community changes. In the absence of data documenting the dynamic changes of AMF composition in fields undergoing the entire process: primary forest → land conversion → pasture management → land abandonment succession, we used a space-for-time approach (Quesada et al., 2009). This allowed us to compare the changes sequentially in time using fields that at the time of measurement were in different stages of the process. OGFs were located within the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve and pastures and successional plots outside the reserve. OGFs were well preserved in this region until they were converted to agriculture and pasture use in the 1970s and 1980s as a result of a governmental program

of land distribution. For this reason, all pasture and successional sites have management histories shorter than 40 yr (**Table 1**). Pastures are under low-input management, with no tillage, herbicides, or fertilizers, but with intense grazing and frequent burning to control invasion of other plants and boost grass development. When productivity decays and pastures are abandoned, disturbance is more infrequent, usually as coppicing and occasional grazing (Trilleras et al., 2015). We gathered the most homogeneous set of sites as possible considering that both the landscape and the management histories are highly diverse.

All sites were located on independent hillsides (**Fig. 1**). Only two sites, the OGFs, are 300 m apart; the rest of the sites are separated by at least 1 km to reduce spatial confounding effects. Soil samples were taken in November 2011, 1 month after the last rain of that year, in 15 X 10 m plots marked along the slope. The beginning of the dry season is a good time for sampling because AMF sporulation peaks and spores have not undergone severe desiccation or attack by other organisms (Gavito *pers. comm.*). The plots were divided in three 5 X 10 m sections

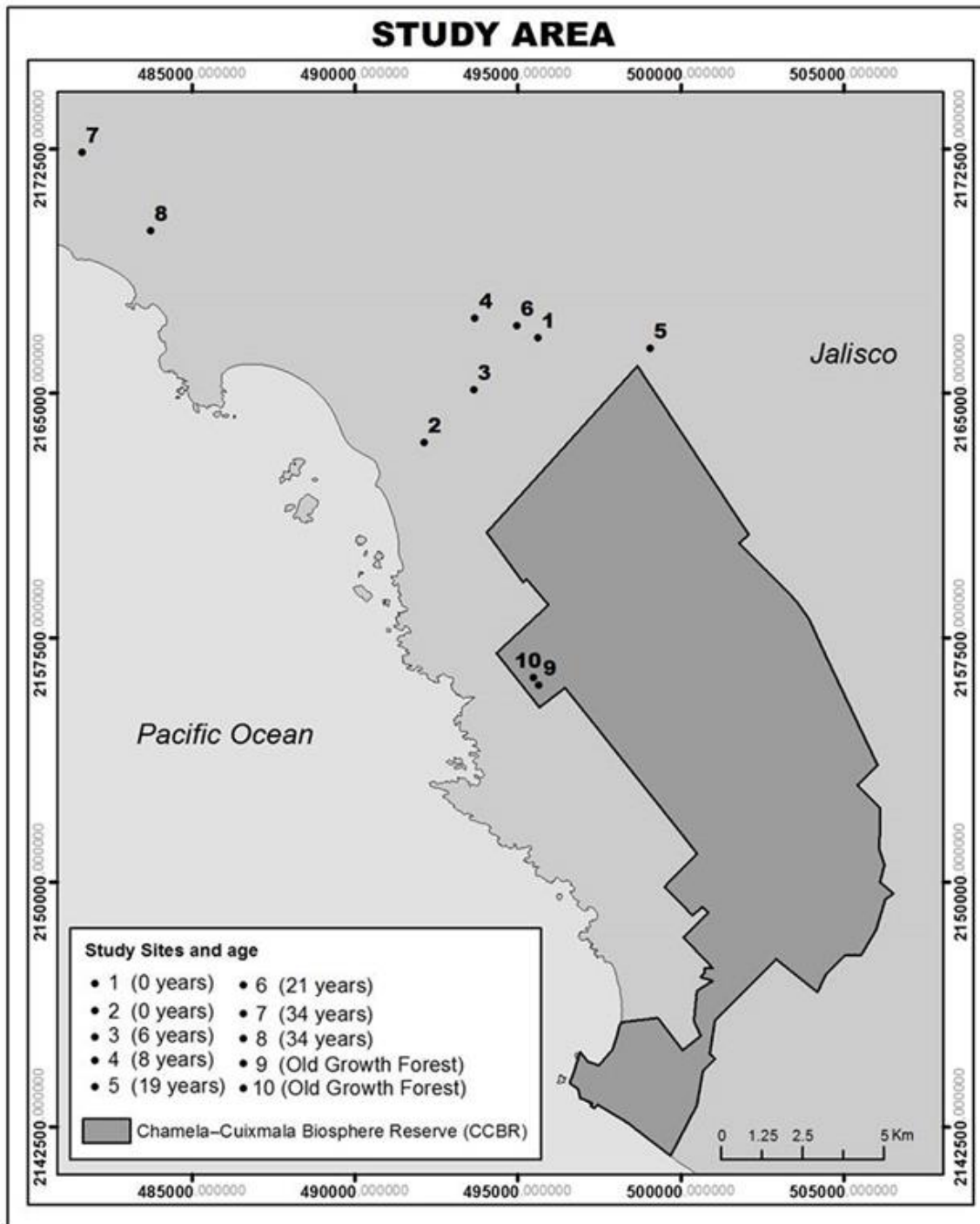


Figure 1. Map showing the location of the study sites (black dots) and the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (dark gray polygon).

(top, middle and low) and five sampling points were marked with a minimum of 1.5 m spacing, within each section. Soil was sampled from 0 to 10 cm depth of the mineral soil, by inserting a shovel as uniformly as possible considering the abundance of rocks and pebbles and soil compaction in most sites.

At the same time we measured soil temperature at 10-cm depth besides each sampling point by inserting the metal probe of an oven thermometer. The five samples of approximately 500 g from each section were kept separate (15 samples per site) and sealed in plastic bags until processing. In the lab a subsample of each soil sample was weighed fresh as soon as possible and moisture content was determined by weight difference after oven-drying to constant weight. The rest of the soil sample was refrigerated at 4 °C and processed for AMF spore extraction and identification within 8 months.

Soil properties were measured in a separate study performed 1 yr before our sampling in the same plots and with the same sampling strategy. Soil properties were measured from one composite sample for each section obtained by mixing thoroughly a subsample from the five samples collected. Bulk density samples were taken from one random sampling point in each section of the slope using intact cores taken with a 6-cm diameter PVC cylinder. The core was stored in a sealed plastic bag until processing in the lab. Fresh weight was measured and the soil was oven-dried until reaching constant weight. Soil pH (1:5 in water), available P (Murphy & Riley, 1962; Mehlich, 1984), C (Total Carbon Analyzer, UIC 1995), NO₃ and NH₄ (KCl extraction, Robertson et al., 1999, and phenol hypochlorite method, Technicon Industrial Systems, 1977) were measured in all composite samples.

Spores were extracted from 50-g soil subsamples by soaking in 1000 ml water with 1% hydrogen peroxide for 30 min, shaking with a spoon and decanting through a series of sieves with decreasing opening (Gerdemann & Nicolson, 1963). The fraction remaining between the 0.5 mm and 0.02 mm sieves was collected and centrifuged in water for 1 min at 448 g. After decanting, the pellet was suspended in 50% sucrose and centrifuged for 2 min at 448 g. After decanting through a 20-mm sieve, the spores were washed in water. Spores were collected and separated in Petri dishes using a stereomicroscope for their identification. Morphotypes were separated into two groups trying to include spores of all types in each. The two groups were mounted on slides with polyvinyl alcohol with and without Melzer's reagent, to examine spore-wall reactions for taxonomic identification (Koske & Tessier, 1983). Morphotypes were identified whenever possible using species descriptions and materials from specialized websites: International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<http://invam.caf.wvu.edu/>), Blaszkowski (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>), Schübler and Walker (<http://schuessler.userweb.mwn.de/amphylo/>) following the classification proposed by Redecker et al. (2013). AMF-resembling morphotypes not matching a described species were assigned to the closest family or genus. Morphotypes with less than 5 spores in the set of samples and spores with damaged walls were not included in the study.

Species richness was the sum of different spore morphotypes. The frequency of occurrence of each species was calculated based on presence/absence of the species in a sample. Frequency is the percentage of samples where the species was present from the total samples (15), and was an estimator of abundance (Magurran, 2004) of AMF morphotypes. Frequency of occurrence $\geq 50\%$ was considered as a dominant, $\leq 30 - 50\%$

as a very common, ≤ 10 – 30% as a common, and $\leq 10\%$ as a rare species (Zhang et al., 2004). AMF diversity was assessed with Shannon H' index using the frequency of occurrence explained above and evenness was obtained by dividing H' by the log of the number of taxa (Pielou). Species accumulation curves, Shannon, Pielou, Chao2 richness estimator and sampling completion were calculated for each site using EstimateS 9.1.0. Dominance patterns of families in the AMF communities were examined with Whittaker diagrams of frequency distributions in each site. Community similarity was compared using Sorensen's indexes based on species presence/absence and the number of species shared (Koleff et al., 2003). We explored the groupings and similarities among AMF communities with a Hierarchical Cluster Analysis ordering species according to their taxonomical distance, presence/absence and frequency of occurrence. These analyses were performed with `betadiver` and `treedive` functions of package `vegan` 2.3e5 (Oksanen et al., 2016) in R 3.2.5 (R Core Team, 2015).

We assessed resistance to, and recovery from, land-use change for three AMF diversity measures: species richness and the Shannon and Pielou indexes. Resistance of the AMF communities to pasture use was tested with generalized linear mixed models where the two land covers (old growth forest and active pasture) were a fixed factor and site was included as a random factor in the intercept of the model. Recovery of the AMF communities from pasture use was also tested with a generalized linear mixed model where all land covers, excluding old-growth forests, were a fixed factor, with four levels: pasture, and early, intermediate and late successional, and site was included as a random factor in the intercept of the model. Evenness was logit transformed following Warton & Hui (2011). A normal error distribution was set for diversity and evenness and a Poisson

distribution was set for richness. Visual inspection of models' residuals was done to assess homogeneity of variances assumption and the presence of outliers following Zuur et al. (2010). We used regression analysis to test if the shape of the line suggested a return to pre-conversion values. The age of the OGFs is unknown; therefore, the regression included only the active pastures (age zero) and the successional fields. OGF values are shown separately just for comparison. Additionally, we performed correlation tests between the relative frequencies of the orders, families and genera retrieved as morphotypes along the successional gradient to explore if there was a similar trend of change in the AMF communities. Finally, we performed a Canonical Correspondence Analysis to test the relationship between AMF composition and environmental conditions. We used the standardized mean values obtained for the three slope positions from each site for this analysis since soil properties were determined from samples composited per slope position. The CCA was performed with the functions `decostand`, `cca` and `plot.cca` of the `Vegan` package in R 3.2.3 (R Core Team, 2015).

Table 1. Characteristics and history of use of the study sites in Chamela, Jalisco.

Successional Age (y)	Sites (map)	Land cover	Latitude and longitude	Method used for conversion	Current or past use	Vegetation	Vegetation richness	
							W	H
0	1	Active Pasture	19° 35' 43.00" 105° 02' 31.28"	Slash and burn	Maize for 2 years and active pasture for 15 years.	Canopy dominated by climbing species, herbaceous species and grasses, with some native trees and shrubs (15%).	10 to 15	20 to 32
0	2	Active Pasture	19° 33' 58.28" 105° 04' 30.61"	Slash and burn	Maize for 2 years and active pasture for 34 years.			
6	3	Early regeneration	19° 34' 51.20" 105° 03' 38.20"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.	Canopy dominated by climbing species, grasses and other herbs. 20% are trees and shrubs, mostly juveniles.	15 to 24	22 to 30
8	4	Early regeneration	19° 36' 02.50" 105° 03' 37.30"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.			
19	5	Intermediate regeneration	19° 35' 32.80" 105° 00' 32.70"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.	Canopy dominated by herbs, young trees and woody plants (45%).	25 to 30	25 to 32
21	6	Intermediate regeneration	19° 35' 55.20" 105° 02' 53.50"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.			
34	7	Late regeneration	19° 38' 47.73" 105° 10' 31.13"	Bulldozer slash	Pasture for 6 years.	Canopy dominated by woody plants, trees and some herbs	46	ND
34	8	Late regeneration	19° 37' 29.30" 105° 09' 18.70"	Bulldozer slash	Pasture for 6 years.			
U	9	Old Growth Forest	19° 29' 56.20" 105° 02' 29.80"	Natural Reserve	Primary Forest	Tropical Dry Forest, dominated by legume trees, around 12 m high.	23 to 27	22 to 27
U	10	Old Growth Forest	19° 30' 3.70" 105° 02' 35.30"	Natural Reserve	Primary Forest			

U=Unknown, W= Woody in 0.1 ha, H= Herbaceous in 1 m². Vegetation richness data from: Trilleras et al., 2015, Maza-Villalobos et al., 2011a,b, Mora et al., 2014, Romero-Duque et al., 2007 & Ocampo 2012.

RESULTS

We identified 45 morphotypes (**Table S1**), with predominance of the Glomerales (25) and Diversisporales (19), and only one in the Archaeosporales order. From these, 24 morphotypes belonged to a single family, Glomeraceae. Species accumulation curves showed a completeness between 59% and 94%. (**Fig. S1**).

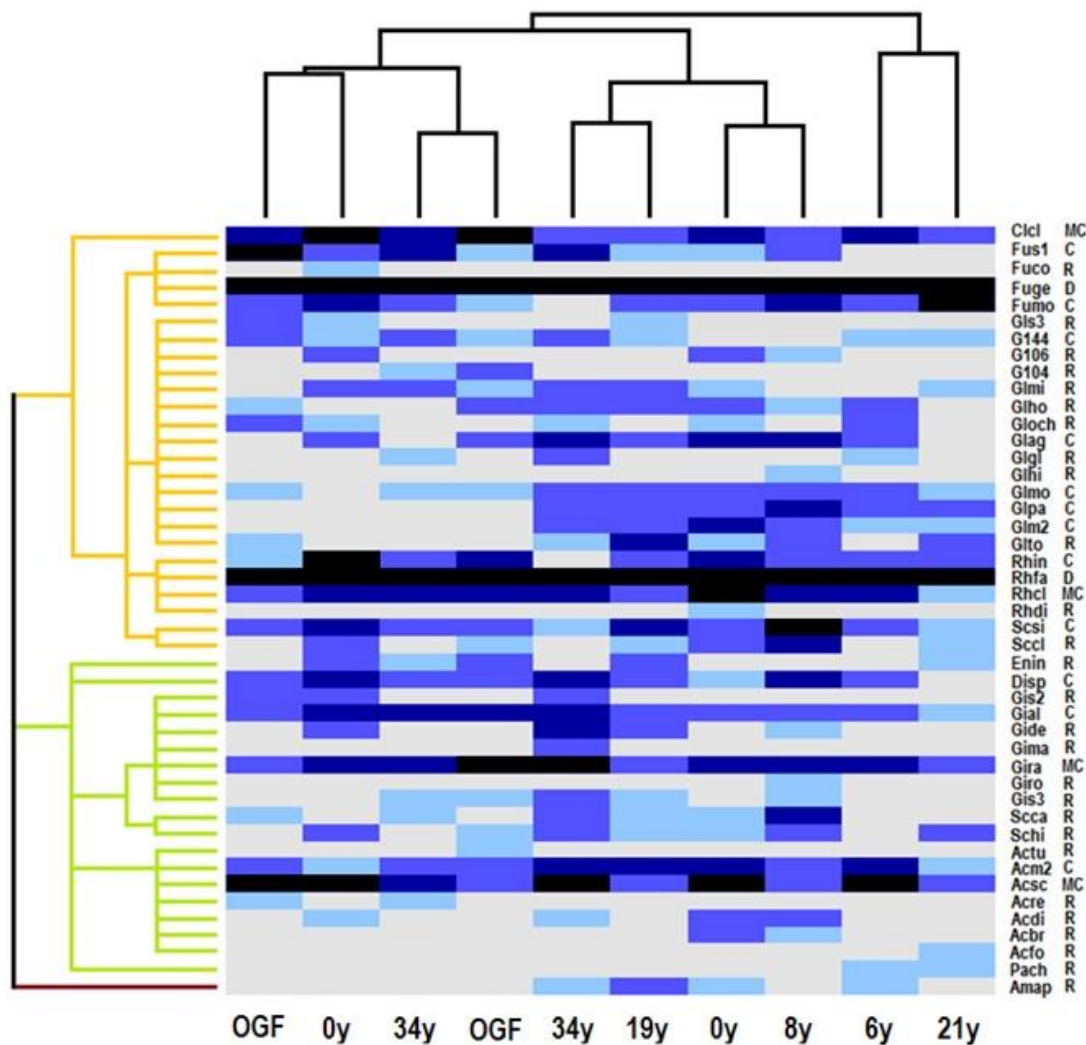


Figure 2. Hierarchical cluster. Heat map values reflect the occurrence frequency of each species in each site. Black = Dominant (D) species (>50%), dark blue = Most Common (MC) species (30% - 50%), intense blue = Common (C) species (10% - 30 %), light blue = Rare (R) species (<10%), gray = 0%, species not present. The top tree shows species shared between sites. The left tree shows taxonomic diversity and color of the branches represents the order: orange = Glomerales, green = Diversisporales, and purple = Archaeosporales. The right columns show the species names' abbreviations and their dominance in all communities. y = years in succession, OGF =old growth forest.

The dominant species in all communities were *Rhizophagus aff. fasciculatum* and *Funnelformis geosporum*. *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglomerus claroideum*, *Gigaspora ramisporophora* and *Acaulospora scrobiculata* were very common species. Community structure was dominated by Glomeraceae and was strikingly similar in all sites (Figs. 2 and 3). The communities shared between 62 and 86% of their species (Table 2); most of the species not shared were either common or rare, but the composition of families was preserved (Fig. 2).

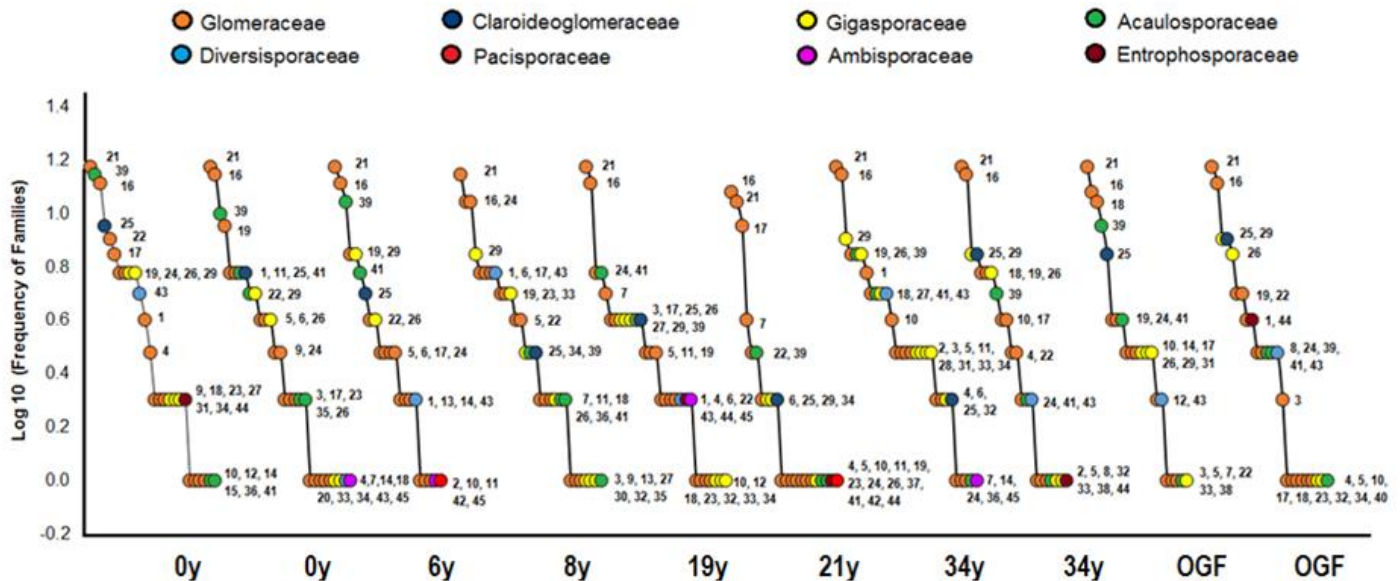


Figure 3. Total frequency curves or Whittaker plots. The numbers represent the number of each species given in supplementary Table (S1). y = years in succession and OGF= old-growth forest.

The cluster analysis separated three groups: the first was comprised by the old-growth forests, one 34-yr succession and one pasture, the second by a 34-yr, 19-yr, and 8-yr successional fields and one pasture, and the third by a 6-yr and a 2-yr successional fields. Despite some predominant association of old sites in the first group and successional fields in the second group, there were some inconsistencies, a pasture was included in the “mature group” and a late-successional community in the “early-intermediate group” (Fig. 2).

Table 2. Similarity matrix for the composition of arbuscular mycorrhizal fungi morphotypes.

	0 y	0 y	6 y	8 y	19 y	21 y	34 y	34 y	OGF	OGF
0 y	26	0.727	0.625	0.691	0.764	0.667	0.691	0.667	0.708	0.760
0 y	20	29	0.745	0.862	0.828	0.706	0.793	0.627	0.706	0.717
6 y	15	19	22	0.667	0.745	0.727	0.745	0.682	0.727	0.696
8 y	19	25	17	29	0.828	0.667	0.759	0.627	0.667	0.717
19 y	21	24	19	24	29	0.784	0.828	0.745	0.745	0.830
21 y	16	18	16	17	20	22	0.627	0.682	0.636	0.739
34 y	19	23	19	22	24	16	29	0.667	0.706	0.679
34 y	16	16	15	16	19	15	17	22	0.773	0.826
OGF	17	18	16	17	19	14	18	17	22	0.696
OGF	19	19	16	19	22	17	18	19	16	24

Sorensen Index (above diagonal), number of shared species (below diagonal) and total number of spore morphotypes for each site (numbers in bold in diagonal). y = years and letters OGF= old growth forest

Average species richness (25.4 ± 3.3), and community diversity (2.8 ± 0.17), evenness (0.89 ± 0.02), and similarity (62 – 86%), were also very similar for all sites (**Fig. 4**). From these variables, we observed a significant statistical difference only in Shannon (H') diversity index (**Table 3**), which was 2.9 in active pastures versus 2.5 in old-growth forests ($p \leq 0.01$), but this difference is too low to have ecological significance. The regressions to evaluate temporal trends along successional time suggesting recovery showed a straight line with slope not different from zero (**Fig. 4**) and the mixed models showed also no differences between land covers (**Table 3**).

Table 3. Results of the resistance and recovery generalized linear mixed models (GLMM) tests performed with richness, diversity and evenness measures. Function refers to function used in R and data distribution in parenthesis. Akaike's Criterion (AIC) values, degrees of freedom (DF) and probability of significance of the model including the land-cover factor.

Resistance: Comparison between old growth forest and active pasture covers					
	Function	Model	AIC	DF	Pr(>Chisq)
Richness	glmer (Poisson)	Null	68.117		
		Cover	68.727	1	0.0804
Diversity (Shannon)	lmer (Normal)	Null	-16.165		
		Cover	-11.528	1	0.0147 *
Evennes (Pielou)	lmer (Normal - logit)	Null	-0.718		
		Cover	6.935	1	0.6067

Recovery: Temporal trends of change from active pastures to early, intermediate and late successional age					
	Function	Model	AIC	DF	Pr(>Chisq)
Richness	glmer (Poisson)	Null	142.281		
		Cover	149.275	3	0.6221
Diversity (Shannon)	lmer (Normal)	Null	20.256		
		Cover	31.683	3	0.5594
Evennes (Pielou)	lmer (Normal - logit)	Null	-6.024		
		Cover	7.098	3	0.2473

* Significant

* Significant

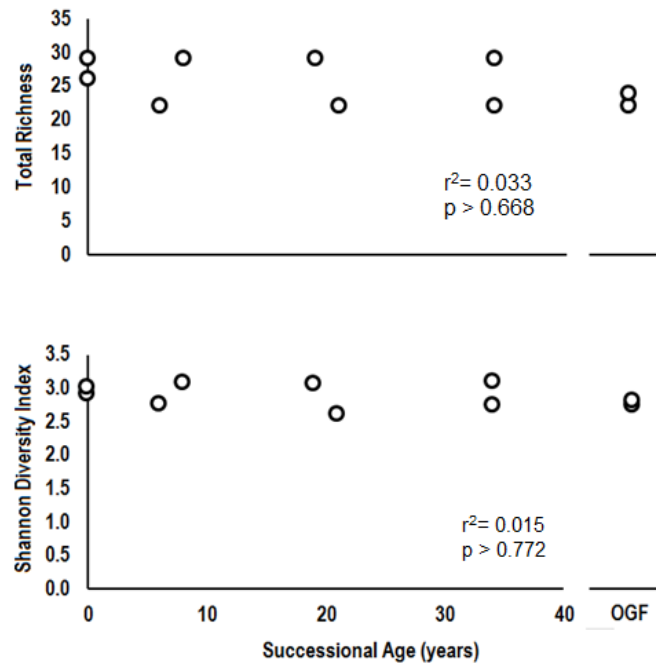


Figure 4. Total richness and diversity as a function of the sites successional age. Richness (S) is the number of species present and diversity is measured as a Shannon Index based on frequencies for each site.

Additionally, there was no significant relationship between the frequency of occurrence and successional time at the family and order levels (**Fig. 5A, C**). There was, however, an opposite relationship between the frequency of occurrence of the Diversisporales and Glomerales ($r = -0.99$, $p = 0.001$, **Fig. 5B**), which is largely explained by the frequencies of two families, Glomeraceae and Gigasporaceae ($r = -0.73$, $p = 0.001$, **Fig. 4D**). The Glomerales, and within them the Glomeraceae, dominated all sites with an average frequency of 60 – 70% (**Fig. 5A, C**), well above the frequencies of the Diversisporales, whereas the Archaeosporales were very rare. Other families represented less than 20% of the community in all communities (**Fig. 5C**).

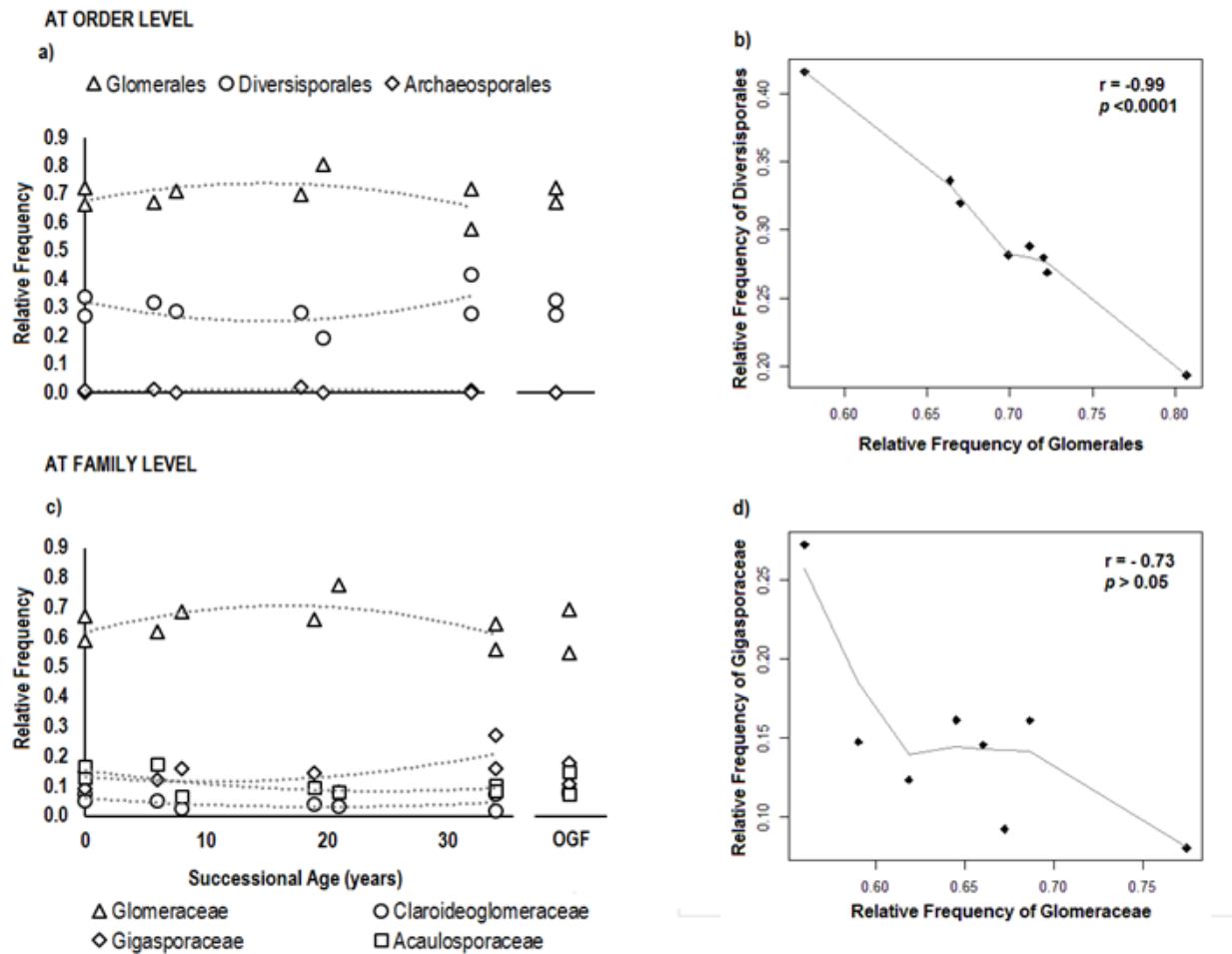
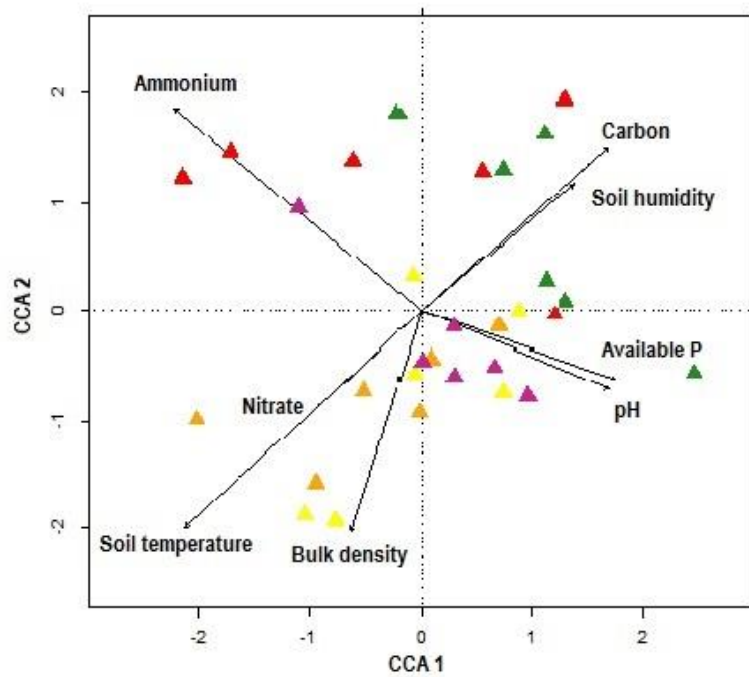


Figure 5. Relative frequencies at different taxonomic levels in relation to the sites successional age, a) at order level, c) at family level. We show only the most frequent families. Correlation plots of b) orders and d) families that were significant based on relative frequencies.

Soil and environmental properties explained only 34% of the community composition in three significant components ($F = 1.36$, $P = 0.002$). The most important properties in the first CCA component, which explained 10% of the variation, were soil ammonium and soil temperature. In the second component, also explaining 10%, the most important properties were bulk density and soil temperature. The only two properties that were significant in this analysis, however, were soil temperature ($F = 1.90$, $P = 0.001$) and ammonium content ($F = 1.86$, $P = 0.002$) (**Table S2**). *Gigaspora* species were the only ones more clearly

associated to a specific land cover, the late regeneration (34 yr) and OGFs, and the highest soil ammonium values. *Acaulospora* species and *Entrophospora infrequens* were related to high available P and pH. The rest of the species had no distinguishable distribution pattern (Fig. 6).

A) Successional age



B) Species

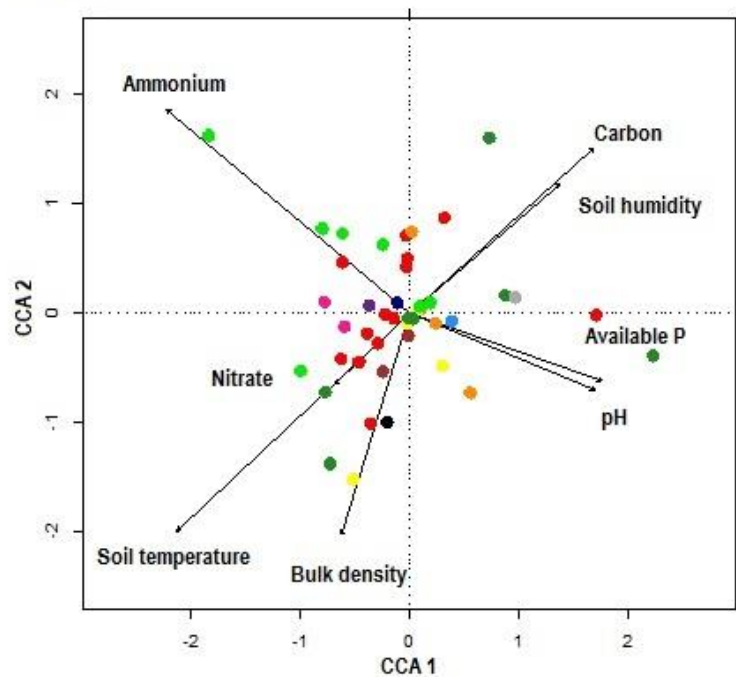


Figure 6. Canonical Correspondence Analysis based on soil and environmental variables. 6a) Successional age ordination. Diamonds show the three values (top, middle and low sections of the plot) entered for each site. Yellow =active pasture, orange= early succession, lilac=intermediate succession, red= late succession and green=primary forest. 6b) Ordination by genera (circles) red=*Glomus*, orange= *Funneliformis*, yellow= *Rhizophagus*, brown= *Sclerocystis*, light blue= *Claroideoglomus*, dark green= *Acaulosporaceae*, light green= *Gigasporaceae*, pink= *Scutellospora*, dark blue= *Diversispora*, purple= *Ambispora*, black= *Pacispora* and gray= *Entrophospora*.

DISCUSSION

We found a surprising similarity in the AMF communities of all sites from this tropical dry forest ecosystem. An analysis of their resilience to land use as pastures and of the trajectory of changes in species richness, structure and composition when natural regeneration was allowed revealed an unexpected stability. This is, to our knowledge, the first study specifically aimed at assessing the resilience of AMF communities to land-use change and the long-term disturbance pressure of pasture management. Although numerous studies (Johnson & Wedin, 1997; Picone, 2000; Urcelay et al., 2009; Stürmer & Siqueira, 2011; da Silva et al., 2014) have investigated community differences under various land uses, land covers, or experimental treatments, that may suggest resilience, the differences between them cannot be interpreted directly as resilience or no resilience. Most studies document the resistance of communities to a given change by testing for differences before and after the change, but lack an assessment of recovery. A previous study of the spore communities in the same region comparing some of the land covers we examined here had found differences in species composition and lower community similarity (28 – 48%) among pasture, late successional and OGF sites (Gavito et al., 2008), which suggested AMF communities were not resilient. Our deeper analyses and the resilience tests performed in the present study suggest AMF communities are resilient.

We expected larger differences in AMF communities as a result of the drastic changes in plant communities that occur when OGFs of this region are transformed to pastures (Trilleras et al., 2015) and during the first decades of natural regeneration (Maza-Villalobos et al., 2011a; Mora et al., 2014). Those vegetation studies showed, however, that the low-input management in pastures (no tillage or fertilizer, rarely herbicides) allows a high plant diversity so that, on average, pastures still have more than half of the plant species richness

(30-47 spp/ha) of old-growth forests (45-54 spp/ha) (**Table 1**). Plant and AMF spore species richness promote each other when there are few species of both partners present but when they exceed 10 species the relationship approaches an asymptote (Van der Heijden et al., 1998; Burrows & Pfleger, 2001). If all functional types are already represented in the plant community, the arrival of new species of the same type would not be expected to promote a change in the AMF community, as suggested by Urcelay et al. (2009). Plant species saturation in our study sites may be the reason for the lack of differences in AMF species richness despite the large difference reported for plant communities (Maza-Villalobos et al., 2011a,b; Mora et al. 2014). On the other hand, our data showed no relation between community similarity and linear distance. In our study, the two OGF sites that are only 300 m apart share 69% of their species, whereas the OGFs and late successional sites, separated by more than 20 km, share 77 – 82% of their species. The distance between some of our sites, even considering this a hilly landscape, may thus be not large enough to limit dispersion. Recent studies (García de León et al. 2016; Nielsen et al., 2016) suggest very high dispersal ability in AMF.

Although we examined only one snapshot of the AMF communities, using spores from soil samples allowed us to evaluate cumulative changes within these communities during the past 1 – 2 yr since spores may rest in soil and be recovered months/years after they were produced. Root-colonizing AMF depict the actual community establishing associations with the plants, which may be quite different from the community that can be found in soil (Hiiesalu et al., 2014; Varela-Cervero et al., 2016). AMF spore communities in soil combine a longer interaction with plant communities and environmental conditions than root communities.

However spore morphotype data have the limitation of missing AMF species that were present in the communities but did not sporulate near the sampling time. Aguilar-Fernández et al. (2009), also provided evidence for the resilience of AMF communities by documenting minimal changes even immediately after the strong disturbance imposed by the slash-and-burn process in the same region. Studies from other tropical regions with similar land-use change dynamics have reported rather small changes in AMF communities after conversion of forests to pastures (Johnson & Wedin, 1997; Picone, 2000).

There are few studies in tropical zones providing diversity indexes in AMF spore communities to compare against (Cuenca et al., 1998; Stürmer & Siqueira, 2011; da Silva et al., 2014; Alves et al., 2015). The most similar study to our work (Stürmer & Siqueira, 2011) reported similar diversity values (1.84 – 2.94) and species richness (23 – 50 spp) but lower evenness (0.25 – 0.42). Alves et al. (2015) found low similarity (around 20%) between natural areas and areas revegetated with native plants after mining activities, which suggests that a stronger disturbance followed by a non-natural process of regeneration may cause a larger change in AMF communities than those we observed.

Despite the overall resilience in all communities, we found some evidence for selective species turnover from the negative relationship between the frequency of Glomerales and Diversisporales but this had no relation with successional time. There was only a trend for proportionally more Diversisporales in the community as succession advances. Although the Glomeraceae dominated all sites, each site contained morphotypes of at least 4e5 families. Different functional traits preserved at the family level (Hart & Reader, 2002; Voets et al., 2006; Maherali & Klironomos, 2007), and potentially giving a competitive advantage under certain conditions, might be the mechanism preventing that functionally

similar and phylogenetically close taxa coexist at the small scale (Maherali & Klironomos, 2012).

The low association of AMF community composition with the environmental variables measured was expected given the large spatial variability of soil and environmental conditions amongst the sites. The placing of the communities reflected a gradual transition rather than an abrupt separation in groups, with pastures and old growth forests as the most distant communities and successional communities in between. There was, however, a poor differentiation of the communities in general. Active pastures and early regeneration sites were related to higher soil temperature, bulk density and AMF species richness. Higher soil C, N and humidity, associated to late succession and OGF, are likely a result of increasing plant biomass and canopy closure as succession advances (Lebrija-Trejos et al., 2011; Maza-Villalobos et al., 2011a; Pinzon-Perez, 2013).

Gigaspora species were related to old-growth forests and high soil ammonium. The species related to active pastures and early regeneration sites were either sporocarpic with peridium *Sclerocystis clavispora*, *S. sinuosa* or dark and thick-walled (*Glomus* sp.

106). The generalist species *Rhizophagus aff. fasciculatum* and *Funneliformis geosporum* were also thick-walled. Alvarez-Santiago (2002) also reported that thick-walled morphotypes were common in pastures and these features are probably related to protection from a harsh environment.

Tropical dry forest environmental conditions are extremely erratic, mainly in terms of water availability (Maass & Burgos, 2011). It has been proposed that microbial arrangements in fluctuating ecosystems are more resistant to land-use change because they are adapted to extreme variation and have higher acclimation capacity than those inhabiting more stable environments (Hawkes & Keitt, 2015). The small differences in structure and composition of

the AMF communities suggest the species present have a large plasticity and acclimation capacity that may be related to the resistance to the severe and persistent disturbance imposed by grazing and burning in extensive rangeland. The time-for-space approach we used has limitations and demands cautious interpretation, but it is a useful approach when following the dynamics in permanent plots over several decades is not feasible (Maza-Villalobos et al., 2011b). The pasture sites for example, had been under active management for 15 and 34 yr, a period long enough for the effects of pasture use to mask the effects of forest conversion by slash-and-burn. During the full time period some changes may have initiated after land conversion, some effects of conversion may have exacerbated, some may have attenuated, whereas other variables may have remained unaltered during the entire period. In this study we report the cumulative effect of conversion and pasture use at advanced pasture ages and therefore cannot differentiate the effects of specific disturbance events along the history of each site. Furthermore, there are limitations to interpreting community composition based on our low replication and on spore morphotype frequencies, because these represent an unknown proportion of the actual AMF species composition. We conclude the AMF communities of this tropical dry forest ecosystem are resilient to the prevalent land-use change and pasture management pressures since the various approaches we used here to complement the resilience analysis suggested they were resistant. We expected the AMF communities would not resist the disturbance of pasture management, but expected they would recover. Our analyses showed that the resilience to land-use change we report here for AMF is due to resistance, and not to recovery, and is in accordance with what has been observed in several soil and vegetation properties in the same region (Ayala-Orozco et al., 2017). We consider this as good news that brings hope to conservation efforts since, either through resistance or recovery, biodiversity seems to

withstand the forest conversion process followed by long-term disturbance pressure of the prevailing extensive, low input pasture management. If the resilience of AMF communities is confirmed in further studies, their diversity might be preserved not only in protected areas, but also in successional fields and even in managed fields with sustainable practices.

ACKNOWLEDGEMENTS

S. M. Carrillo-Saucedo thanks to Posgrado en Ciencias Biológicas at Universidad Nacional Autónoma de México for supporting her PhD studies as well as Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for a scholarship. I.S. thanks CNPq-Brazil for a fellowship. This article is a PhD degree requirement for S.M.C.S. We wish to thank Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica of Universidad Nacional Autónoma de México (project PAPIIT-IN224010) and CONACyT projects SEP/CONACyT 2009-129740 and 2015-255544 for funding this research. Thanks to Drs. Francisco Mora Ardila, Ernesto V. Vega Peña and Felipe Barragán for their help with statistical analysis, to Maribel Nava Mendoza and Ana Lidia Sandoval Pérez for technical assistance and to M. G. Alejandra Espinoza Maya for drawing the map.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.11.006>.

REFERENCES

- Aguilar-Fernandez M., Jaramillo V., Varela-Fregoso L., Gavito M. 2009. Short-term consequences of slash and burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry forest. *Mycorrhiza* 19(3),179-186.
- Álvarez-Santiago S. 2002. Efecto de la perturbación en la interacción micorrízica vesículo-arbuscular en un ecosistema tropical estacional. (Effect of disturbance on the vesicular-arbuscular mycorrhizal interaction in a seasonal tropical ecosystem. M. Sc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.

- Alves D., Gomes R., de Alencar B., Alves G., Oehl F., Costa Maia. 2015. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi on a vegetation gradient in tropical coastal dunes. *Applied Soil Ecology* 96, 7-17
- Ayala-Orozco B., Gavito M. E., Mora F., Siddique I., Balvanera P., Jaramillo V. J., Cotler H., Romero-Duque L.P., Martínez-Meyer E. 2017. Resilience of Soil Properties to Land-Use Change in a Tropical Dry Forest Ecosystem. *Land Degradation and Development*. DOI: 10.1002/ldr.2686
- Burgos A., Maass J. M. 2004. Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of western Mexico. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 104, 475-481.
- Burrows R., Pfleger F. 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Canadian Journal of Botanical* 80, 120-130.
- Camargo-Ricalde S. 2002. Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 71, 33-44.
- Cortés-González J., Vega-Fraga M., Varela-Fregoso L., Martínez-Trujillo M., Carreón-Abud Y., Gavito M. 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi (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.
- Cotler H., Durán E., Siebe C. 2002. Caracterización morfo-edafológica y calidad de sitio de un bosque tropical caducifolio. In: Noguera F., Vega J., García A., Quesada M. (eds). *Historia Natural de Chamela*, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 17-79.
- Cotler H., Ortega-Larrocea M. 2006. Effects of land use on soil erosion in a tropical dry forest ecosystem, Chamela watershed, Mexico. *Catena* 65, 107-117.
- Cuenca G., de Andrade Z., Escalante G. 1998. Diversity of Glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. *Soil Biology and Biochemistry* 30(6), 711-719.
- da Silva I., Aragao C., Ferreira R., Alves D., de Melo A., Oehl F., Costa L. 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid. *Applied Soil Ecology* 84, 166-185.
- Falconer R., Otten W., White N. 2015. Towards modeling the resistance and resilience of “below-ground” fungal communities: A mechanistic approach and trait-based approach. Chapter One. *Advances in Applied Microbiology* 93, 1-44 ISSN 0065 2164.
- García de León., Moora M., Öpik M., Neuenkamp L., Gerz M., Jairus T., Vasar M., Bueno C., Davison J., Zobel M. 2016. Symbiont dynamics during ecosystem succession: co-occurring plant and arbuscular mycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbiology Ecology* 92, 1-9 doi:10.1093/femsec/fiw097
- García-Oliva F., Sanford Jr R., Kelly E. 1999. Effects of Slash-and-burn Management on Soil Aggregate Organic C and N in a tropical Deciduous Forest. *Geoderma* 88 (1-2), 1-12.
- García-Oliva F., Camou A., Maass J. 2002. El clima en la región central de la costa del pacífico mexicano. In: Noguera F., Vega H., García A., Quesada M. *Historia Natural de Chamela*. Ed. Instituto de Biología UNAM. México. 563 pp.

- Gavito M., Pérez-Castillo D., González-Monterrubio C., Vieyra-Hernández T., Martínez M. 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. *Mycorrhiza* 19, 47-60.
- Gerdemann J., Nicolson T. 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Transactions of the British Mycological Society* 46, 234-244.
- Hart M., Reader R. 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 153, 335-344.
- Hawkes C., Keitt T. 2015. Resilience vs. historical contingency in microbial responses to environmental change. *Ecology letters* 18, 612 – 625.
- Hiiesalu I., Pärtel M., Davison J., Gerhold P., Metsis M., Moora M., Öpik M., Vasar M., Zobel M., Wilson S. 2014. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. *New Phytologist* 203, 233 – 244 doi: 10.1111/nph.12765
- Hodgson D., McDonald J., Hosken D. 2015. What do you mean, 'resilient'? *Trends in Ecology & Evolution* 30, 503-506.
- Holling, C.S. 1973. Resilience and stability of ecological systems. *Annual Review of Ecology and Systematics* 4, 1-23.
- Jakobsen I. 1998. Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. In: Varma A., Hock B. (Eds). *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. 1998. Springer. Germany 704 pp.
- Johnson N., Wedin D. A. 1997. Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. *Ecological Applications* 7, 171- 182.
- Johnson N., Hoeksema J., Bever J., Chaudhary V., Gehring C., Klironomos J., Koide R., Miller R., Moore J., Moutoglou P., Schwartz M., Simard S., Swenson W., Umbanhowar J., Wilson G., C. Zabinski. 2006. From Lilliput to Brodingnag: extending models of mycorrhizal functions across scales. *BioScience* 56(11), 889-900
- Kivlin S., Hawkes C., Treseder K. 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry*. 43 (11), 2294- 2303.
- Koide R., Fernandez C., Malcolm G. 2013. Determining place and process: functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytologist* doi: 10.1111/nph.12538.
- Koleff P., Gaston K., Lennon J. 2003. Measuring beta diversity for presence-absence data. *Journal of Animal Ecology* 72, 367-382.
- Koske A., Tessier B. 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. *Mycological Society of American Newsletter* 34(2), 59.
- Lebrija-Trejos E., Bongers F., Pérez-García E., Meave J. 2008. Successional change and resilience of a very dry tropical deciduous forest following shifting agriculture. *Biotropica* 40(4), 422-431
- Lebrija-Trejos E., Pérez-García E. A., Meave J. A., Poorter L., Bongers F. 2011. Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 27, 477-489.

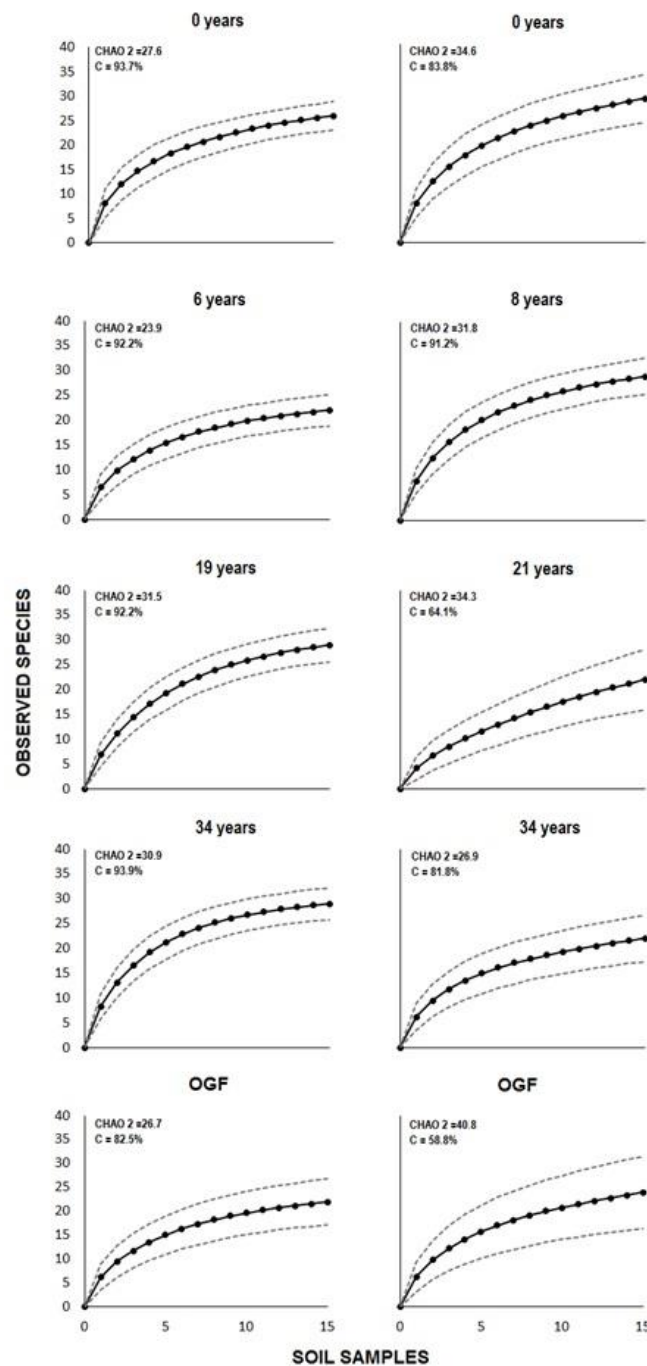
- Lumini E., Orgiazzi A., Borriello R., Bonfante P., Bianciotto V. 2010. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungi diversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environmental Microbiology* 12, 2165- 2179.
- Maass J., Burgos A. 2011. Water Dynamics at the Ecosystem Level in Tropical Dry Forests. In: Dirzo R., Young H., Mooney H., Ceballos G., (Eds). *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*. Island Press. Pp:141-156.
- Magurran A. 2004. *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Science Ltd. United Kingdom 256pp.
- Maherali H., Klironomos J. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316, 1746-1748.
- Maherali H., Klironomos J. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316, 1746-1748
- Maherali H., Klironomos J. 2012. Phylogenetic and Trait-Based Assembly of Arbuscular Mycorrhizal Fungal Communities. *PLoS ONE* 7(5), e36695. doi:10.1371/journal.pone.0036695.
- Maza-Villalobos S., Lemus-Herrera C., Martínez-Ramos M. 2011a. Successional trends in soil seed banks of abandoned pastures of a Neotropical dry region. *Journal of Tropical Ecology* 27: 35-49.
- Maza-Villalobos S., Balvanera P., Martínez-Ramos M. 2011b. Early regeneration of tropical dry forest from abandoned pastures: contrasting chronosequence and dynamic approaches. *Biotropica* 46(6), 666-675.
- Mehlich A. 1984. "Mehlich 3 Soil Test Extractant: A Modification of Mehlich 2 Extractant." *Comm. Soil Science Plant Analysis* 15 (12), 1409–1416.
- Miles L., Newton A., DeFries R., Ravilious C., May I., Blith S., Kapos V., Gordon J. 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forest. *Journal of Biogeography* 33, 491-505.
- Mora F., Martínez-Ramos M., Ibarra-Manríquez G., Pérez-Jiménez A., Trilleras J., Balvanera P. 2014. Testing chronosequences through dynamic approaches: Time and site effects on tropical dry forest succession. *Biotrópica* doi:10.1111/btp.12187.
- Murphy J., Riley, J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chemistry Acta* 27, 31–36.
- Nielsen K., Kjoller R., Bruun H., Schoneer T., Rosendahl S. 2016. Colonization of new land by arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecology* 20, 22-29.
- Ocampo M. 2012. Dinámica de la comunidad herbácea del sotobosque de bosques tropicales secos secundarios de Jalisco. (Dynamics of the understory herbaceous community of secondary dry tropical forests of Jalisco). B. Sc. Thesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Oehl F., Laczko E., Bogenrieder A., Stahr K., Bösch R., van der Heijden M., Sieverding E. 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biology & Biochemistry* 42, 724-738.
- Oksanen J., Blanchet G., Kindt R., Legendre P., Minchin P., O'Hara R., Simpson G., Solymos P., Stevens H., Wagner H. 2016. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.3-3. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.

- Quesada M., Sánchez-Azofeifa G., Álvarez-Añorve M., Stoner K., Ávila-Cabadilla L., Calvo-Alvarado J., Castillo A., Espírito-Santo M., Fagundes M., Fernandes G., Gamon J., Lopezaraiza-Mikel M., Lawrence D., Cerdeira L., Powers J., Neves F., Rosas-Guerrero V., Savage R., Sánchez-Montoya G. 2009. Succession and management of tropical dry forests in the America's Review and new perspectives. *Forest Ecology and Management* 258, 1014-1024.
- Pereira C., da Silva D., Ferreira A., Goto B., Maia L. 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Atlantic forest areas under different land uses. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 185, 245-252.
- Picone C. 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica* 32, 734-750.
- Pinzón-Perez L. 2013. Análisis morfofuncional de plántulas para la selección de especies útiles en la restauración de bosques secos tropicales secundarios. M. Sc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- R Core Team. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.Rproject.org/>
- Redecker D., Schüßler A., Stockinger H., Stürmer S., Morton J., Walker C. 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23, 515-531.
- Rillig M., Mummey D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171, 41-53.
- Robertson P., Coleman D., Bledsoe C., Sollins P. 1999. Standard soil methods for long-term ecological research (LTER). Oxford University Press, Oxford.
- Romero-Duque L., Jaramillo V., Pérez-Jiménez A. 2007. Structure and diversity of secondary tropical dry forests in Mexico, differing in their prior land-use history. *Forest Ecology and Management* 253, 38-47.
- Sandoval-Pérez A., Gavito M., García-Oliva F., Jaramillo V. 2009. Carbon, nitrogen, phosphorus and enzymatic activities in soils under different land use types in a tropical dry ecosystem. *Soil Use and Management* 25, 419- 426.
- Schüßler A., Schuarzott D., Walker C. 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycology Research* 108(12), 1413-1421. Smith S., Read D. 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, 3^{ed}. Academic Press, London.
- Stürmer S., Siqueira J. 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza* 21, 255-267.
- Suazo-Ortuño I., Alvarado-Díaz J., Mendoza E., López-Toledo L., Lara-Urbe N., Márquez-Camargo C., Paz-Gutiérrez J., Rangel-Orozco J. 2015. High resilience of herpetofaunal communities in a human-modified tropical dry forest landscape in western Mexico. *Tropical Conservation Science* 8(2), 396-423.
- Technicon Industrial Systems. 1977. Individual/simultaneous determination of nitrogen and/or phosphorus in BD acid digests. Industrial method no. 329- 74W/B, Technicon Industrial Systems, Tarrytown, New York, USA, 9 pp.
- Trilleras J., Jaramillo V., Vega E., Balvanera P. 2015. Effects of livestock management on the supply of ecosystem services in pastures in a tropical dry región of western Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 211, 133-144.

- Urcelay C., Díaz S., Gurvich D. E., Stuart Chapin III F., Cuevas E., Domínguez L. S. 2009. Mycorrhizal community resilience in response to experimental plant functional type removals in a woody ecosystem. *Journal of Ecology* 97, 1291-1301.
- Van der Heijden M., Klironomos J., Ursic M., Moutoglis P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396: 69-72.
- Van der Heijden M. 2002. Arbuscular Mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: In search for underlying mechanisms and general principles. In: van der Heijden M., Sanders I. (Eds). *Mycorrhizal ecology*. Ecological studies 157. Springer. Germany 469 pp.
- Varela-Cervero S., López-García A., Barea J., Azcón-Aguilar C. 2016. Spring to autumn changes in the arbuscular mycorrhizal fungal community composition in the different propagule types associated to a Mediterranean shrubland. *Plant and soil* 408:107-120 doi:10.1007/s11104-016-2912-3.
- Villa-Galaviz E., Boege K., del-Val E. 2012. Resilience in Plant-Herbivore Networks during Secondary Succession. *PLoS ONE* 7(12), e53009. doi:10.1371/ journal.pone.0053009.
- Voets L., de la Providencia I., Declerck S. 2006. Glomeraceae and Gigasporaceae differ in their ability to form hyphal networks. *New Phytologist* 172, 185-188.
- Warton D., Hui F. 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92(1), 3 – 10.
- Xiang D., Verbruggen E., Hu Y., Veresoglou S., Rillig M., Zhou W., Xu T., Li H., Hao Z., Chen Y., Chen B. 2014. Land use influences arbuscular mycorrhizal fungi communities in the farming-pastoral ecotone of northern China. *New Phytologist* 204, 968-978.
- Zhang Y., Gui L., Liu R. 2004. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. *Plant and Soil* 261, 257-253.
- Zuur A., Ieno E., Elphick C. 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods in Ecology and Evolution* 1, 3 – 14.

APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA

Figure



S1. Species accumulation curves for each community. The middle line shows the observed species, dotted lines show their upper and lower confidence values. C2= Chao 2 Index and C= Completeness percentage.

TABLE S1. Occurrence Frequency, in percentage of the samples, of each species in each site. Column OF shows the occurrence frequency of each species in all samples examined (150 samples). Column D represents the dominance of each species in all samples: >50% dominant (D), 30 – 50% most common (MC), 10 – 30% common (C) and <10% rare (R). Letter y = years and letters OGF= old growth forest. Following columns show species frequencies within each site.

#	SPECIES	KEY	OF	D	0y	0y	6y	8y	19y	21y	34y	34y	OGF	OGF
1	<i>Glomus aggregatum</i>	Glag	20	C	26.7	40.0	13.3	40.0	13.3	0.0	40.0	0.0	0.0	26.7
2	<i>Glomus glomerulatum</i>	Gigl	3.3	R	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	20.0	6.7	0.0	0.0
3	<i>Glomus hoi</i>	Glho	10	R	0.0	13.3	13.3	6.7	26.7	0.0	20.0	0.0	6.7	13.3
4	<i>Glomus microaggregatum</i>	Glm	8.7	R	20.0	6.7	0.0	0.0	13.3	6.7	13.3	20.0	0.0	6.7
5	<i>Glomus monosporum</i>	Glmo	14	C	0.0	26.7	20.0	26.7	20.0	6.7	20.0	6.7	6.7	6.7
6	<i>Glomus pansihalos</i>	Gipa	13	C	0.0	26.7	20.0	40.0	13.3	13.3	13.3	0.0	0.0	0.0
7	<i>Glomus tortuosum</i>	Gito	9.3	R	0.0	6.7	0.0	13.3	33.3	26.7	6.7	0.0	6.7	0.0
8	<i>Glomus sp 1</i>	G104	2.7	R	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	20.0
9	<i>Glomus sp 2</i>	G106	4	R	13.3	20.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
10	<i>Glomus sp 3</i>	G144	11	C	6.7	0.0	6.7	0.0	6.7	6.7	26.7	26.7	20.0	6.7
11	<i>Glomus sp 4</i>	Glm2	11	C	0.0	40.0	6.7	13.3	20.0	6.7	20.0	0.0	0.0	0.0
12	<i>Glomus sp 5</i>	Gls3	2.7	R	6.7	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	13.3	0.0
13	<i>Glomus sp 6</i>	Glhi	0.7	R	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
14	<i>Glomus sp 7</i>	Glch	5.3	R	6.7	6.7	13.3	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	20.0	0.0
15	<i>Funneliformis coronatum</i>	Fuco	0.7	R	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
16	<i>Funneliformis geosporum</i>	Fuge	86	D	86.7	93.3	86.7	73.3	86.7	80.0	93.3	93.3	80.0	86.7
17	<i>Funneliformis mosseae</i>	Fumo	26	C	46.7	13.3	20.0	40.0	26.7	60.0	0.0	26.7	20.0	6.7
18	<i>Funneliformis sp1</i>	Fus1	19	C	13.3	6.7	0.0	13.3	6.7	0.0	33.3	40.0	73.3	6.7
19	<i>Rhizophagus clarus</i>	Rhcl	35	MC	40.0	60.0	46.7	33.3	20.0	6.7	46.7	40.0	26.7	33.3
20	<i>Rhizophagus diaphanum</i>	Rhdi	0.7	R	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
21	<i>Rhizophagus fasciculatum</i>	Rhfa	97	D	100	100	100	93.3	100	73.3	100	100	100	100
22	<i>Rhizophagus intraradices</i>	Rhin	23	C	53.3	33.3	26.7	26.7	13.3	20.0	0.0	20.0	6.7	33.3
23	<i>Sclerocystis clavispora</i>	Sccl	8	R	13.3	13.3	0.0	33.3	6.7	6.7	0.0	0.0	0.0	6.7
24	<i>Sclerocystis sinuosa</i>	Scsi	27	C	40.0	20.0	20.0	73.3	40.0	6.7	6.7	13.3	26.7	20.0
25	<i>Claroideoglomus claroideo</i>	Clcl	35	MC	60.0	40.0	33.3	20.0	26.7	13.3	13.3	46.7	46.7	53.3
26	<i>Gigaspora albida</i>	Gial	29	C	40.0	26.7	26.7	13.3	26.7	6.7	46.7	40.0	20.0	46.7
27	<i>Gigaspora decipiens</i>	Gide	8	R	13.3	0.0	0.0	6.7	26.7	0.0	33.3	0.0	0.0	0.0
28	<i>Gigaspora margarita</i>	Gima	2	R	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	0.0	0.0	0.0
29	<i>Gigaspora ramisporophora</i>	Gira	38	MC	40.0	33.3	46.7	46.7	26.7	13.3	53.3	46.7	20.0	53.3
30	<i>Gigaspora rosea</i>	Giro	0.7	R	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
31	<i>Gigaspora sp 2</i>	Gis2	5.3	R	13.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	20.0	0.0	20.0	0.0
32	<i>Gigaspora sp 3</i>	Gis3	4	R	0.0	0.0	0.0	6.7	6.7	0.0	13.3	6.7	0.0	6.7
33	<i>Scutellospora calospora</i>	Scca	8	R	0.0	6.7	0.0	33.3	6.7	0.0	20.0	6.7	6.7	0.0
34	<i>Scutellospora sp 1</i>	Schi	8.7	R	13.3	6.7	0.0	20.0	6.7	13.3	20.0	0.0	0.0	6.7
35	<i>Acaulospora brasiliensis</i>	Acbr	2	R	0.0	13.3	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0
36	<i>Acaulospora dilatata</i>	Acdi	4	R	6.7	13.3	0.0	13.3	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0
37	<i>Acaulospora foveata</i>	Acfo	0.7	R	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0
38	<i>Acaulospora rehmannii</i>	Acre	1.3	R	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7	6.7	0.0
39	<i>Acaulospora scrobiculata</i>	Acsc	46	MC	93.3	66.7	73.3	20.0	26.7	20.0	46.7	33.3	60.0	20.0
40	<i>Acaulospora tuberculata</i>	Actu	0.7	R	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	6.7
41	<i>Acaulospora sp 1</i>	Acm2	24	C	6.7	40.0	40.0	13.3	40.0	6.7	33.3	13.3	26.7	20.0
42	<i>Pacispora chimonobambusae</i>	Pach	1.3	R	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0	0.0
43	<i>Diversispora spurca</i>	Disp	19	C	33.3	6.7	13.3	40.0	13.3	0.0	33.3	13.3	13.3	20.0
44	<i>Entrophospora infrequens</i>	Enin	6.7	R	13.3	0.0	0.0	0.0	13.3	6.7	0.0	6.7	0.0	26.7
45	<i>Ambispora appendicular</i>	Amap	3.3	R	0.0	6.7	6.7	0.0	13.3	0.0	6.7	0.0	0.0	0.0

TABLE S2. Significance of the environmental variables in the Canonical Correspondence Analysis based on soil and environmental variables and AMF species.

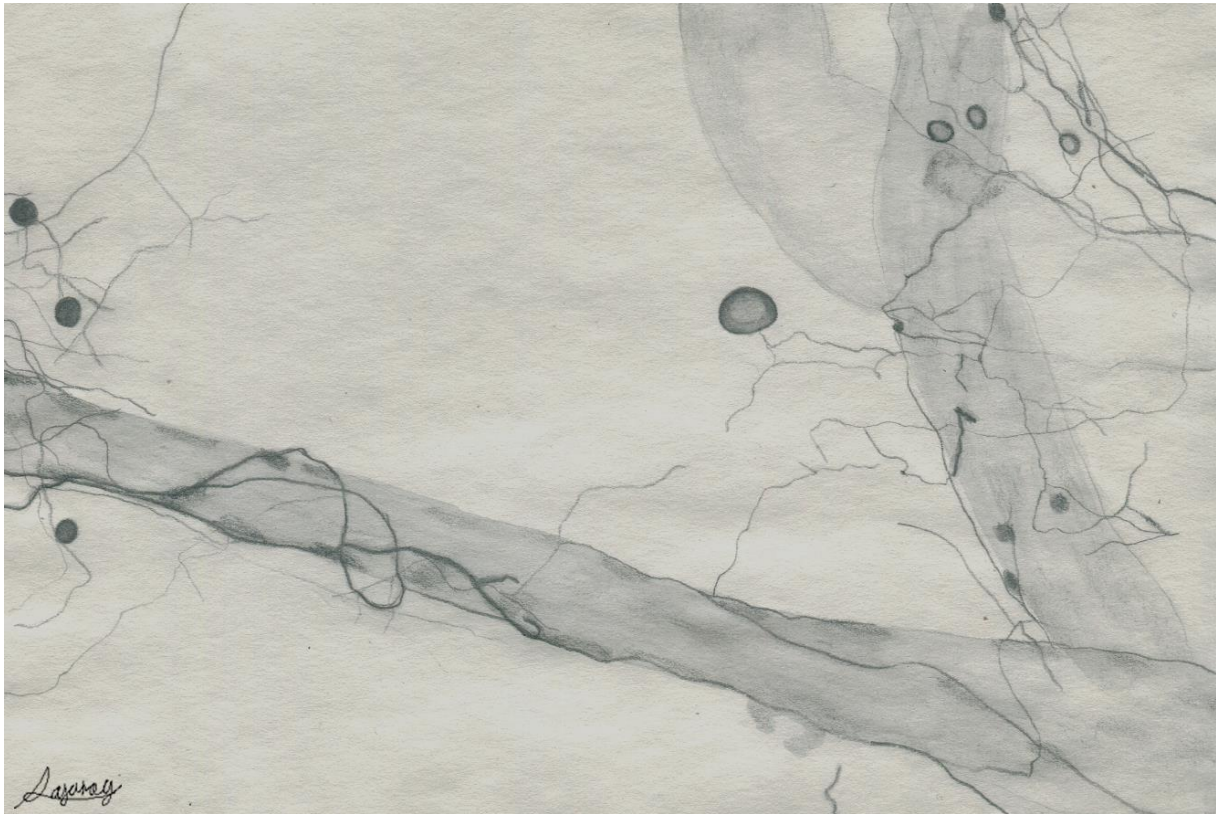
	Df	ChiSquare	F	Pr(>F)	
Temperature	1	0.0787	1.9003	0.001	**
Soil Humidity	1	0.04618	1.1153	0.301	
Carbon	1	0.04446	1.0737	0.408	
Nitrate	1	0.05592	1.3504	0.114	
Ammonium	1	0.07721	1.8645	0.002	**
Available Phosphorus	1	0.04458	1.0765	0.380	
Bulk Density	1	0.05060	1.2220	0.214	
pH	1	0.05569	1.3448	0.123	
Residual	21	0.86964			
Significant values: ** P <0.001					

CAPÍTULO II.

ATRIBUTOS FUNCIONALES DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES DEL BOSQUE TROPICAL SECO EN RESPUESTA A LA SEQUÍA

*“El bosque no admite ningún minuto de reposo en la eterna lucha por sobrevivir.
Creación y destrucción”.*

Bruno Traven
(En: El Visitante Nocturno)



RESUMEN

Los atributos funcionales de respuesta reflejan la habilidad de las especies para responder a la heterogeneidad ambiental y asegurar su supervivencia. Existen pocos estudios sobre estos atributos en comunidades de hongos micorrízicos arbusculares (HMA). Se analizaron las adecuaciones morfológicas y fisiológicas del micelio extraradical a dos niveles de humedad del suelo en siete comunidades de HMA procedentes de un gradiente sucesional de un bosque tropical seco mediante un experimento en macetas. El inóculo micorrízico provino de 6 sitios con diferentes edades de regeneración natural (0, 6, 8, 19, 21 y 34 años) y un sitio de bosque maduro (BTS). La hipótesis fue que, si el inóculo provenía de condiciones ambientales distintas como consecuencia de los cambios en la vegetación y del suelo, los atributos de respuesta al estrés hídrico reflejarían diferentes adaptaciones para resistir la escasez de agua. Los atributos que respondieron a la humedad del suelo fueron la longitud total del micelio, que disminuyó, y el diámetro promedio y la proporción de hifas muy gruesas y gruesas que aumentaron, al bajar el riego. Esto sugiere que se puede utilizar este tipo de atributos para estudios de respuesta a la humedad del suelo en comunidades de HMA. Sin embargo, los cambios fueron mínimos al bajar el riego y no se encontraron diferencias en la respuesta de los atributos con respecto a la edad sucesional de las comunidades de HMA, lo que sugiere que las comunidades de HMA y sus atributos funcionales de respuesta al estrés hídrico se mantuvieron sin cambios notables frente a la perturbación y sucesión del BTS.

INTRODUCCIÓN

Los atributos funcionales (AF) son aquellas características morfológicas, fisiológicas o de historia de vida que pueden ser medidas en los organismos desde el nivel de los genes hasta el individuo completo (Cornelisen et al., 2003; Lavorel et al., 2007). Para su estudio, se dividen en atributos de *respuesta* y de *efecto*. Los atributos de respuesta reflejan la idoneidad de los organismos para mantenerse en distintas condiciones ambientales, mientras que los de efecto muestran la influencia que tienen los organismos sobre el ecosistema (Lavorel & Garnier, 2002; Gross et al., 2008).

El estudio de los AF en los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) es relativamente reciente (van der Heijden & Sheußlim, 2007; Maherali & Klironomos, 2007; 2012; Koide et al., 2014) a pesar de que los HMA desarrollan papeles funcionales clave en todas las escalas ecológicas (Johnson et al., 2006). Esto se debe a la dificultad para distinguir a los individuos y/o especies en el suelo (Boddington et al., 1999). Los estudios experimentales en cultivos puros de distintos inóculos han mostrado que los atributos funcionales, i. e., la adquisición de P, son heterogéneos dentro de una misma especie y entre especies diferentes de HMA (Munkvold et al., 2004). No obstante, otros estudios han observado que atributos como la longitud del micelio, la esporulación o la tasa de crecimiento se conservan a nivel de familia (Maherali & Klironomos, 2007; 2012), lo que sugiere que las comunidades de HMA presentan diferentes estrategias de historia de vida de acuerdo a su composición y las condiciones dónde se desenvuelven (Chagnon et al., 2013).

El micelio extraradical (ME), cuya función principal es explorar el suelo en su búsqueda de nutrientes y agua, constituye una porción sustancial de la biomasa de los HMA (Smith & Read, 2002). Además, es un tejido sensible que responde rápidamente a los cambios en

su entorno, p. ej., niveles de P del suelo (van Aarle et al., 2002); por lo tanto, es un atributo que puede medirse de manera relativamente fácil (Jakobsen, 1998) y dar indicios de su respuesta al nivel de la comunidad.

El bosque tropical seco (BTS) es un ecosistema altamente estacional donde la dinámica del agua juega un papel crucial (Maass & Burgos, 2011; Maass et al., 2018) en sus procesos como la productividad primaria (Jaramillo et al., 2011), la descomposición de la materia orgánica (Anaya et al., 2012) y la disponibilidad de P (Campo et al., 1998), entre otros. La comunidad vegetal ha desarrollado diferentes adaptaciones morfológicas y funcionales como la pérdida de hojas (Álvarez-Añorve et al., 2012; Méndez-Alonzo et al., 2012; Pineda et al., 2011), así como diferentes estrategias de respuesta a los cambios estacionales del ambiente, p. ej., la conservación de recursos (Lohbeck et al., 2013) o la explotación del recurso (Pineda et al., 2013).

El BTS de Chamela, Jal., está bajo constante presión antrópica por el cambio de uso de suelo y el manejo agropecuario, que promueven una dinámica de uso y abandono de las tierras transformadas para las actividades productivas (Burgos & Maass, 2004; Castillo et al., 2005). Durante la sucesión del BTS, las condiciones ambientales van de ambientes secos y calientes a ambientes relativamente mas húmedos y menos calientes (Lebrija-Trejos et al., 2011; Pineda et al., 2013), que promueven el desarrollo de estrategias funcionales para lidiar con las condiciones del entorno (Lohbeck et al., 2013; Pineda et al., 2011; 2013). Por ejemplo, las plantas de estados sucesionales tempranos presentan estrategias para enfrentar la sequía y usar eficientemente el agua (*estrategia conservativa*) en comparación con las plantas de estados sucesionales tardíos, las cuales al tener una disponibilidad de agua relativamente estable tienden a utilizar de manera continua el

recurso (*estrategia adquisitiva*) (Lebrija-Trejos et al., 2010; Álvarez-Añorve et al., 2012). Sin embargo, también existe un grupo de especies que independientemente de la etapa sucesional aprovechan el recurso cuando lo hay (*estrategia explotadora*) (Pineda et al., 2013).

En el caso de los HMA, estas estrategias no se han estudiado de manera detallada a partir del análisis de sus atributos de respuesta. A pesar de ello, se sabe que los HMA, durante periodos de sequía, generan un aumento en el crecimiento y rendimiento de grano en plantas micorrizadas (Al-Karaki et al., 1998; 2004), participan activamente en la dinámica de retención de agua del suelo (Augé 2001), promueven el levantamiento hidráulico de las capas profundas a las capas someras del suelo (Querejeta et al., 2003; 2007) y aumentan la supervivencia de las comunidades vegetales a partir del movimiento del agua entre las redes miceliares que conectan a las plantas (Eguerton-Warburton et al., 2007). En los hongos ascomicetos y basidiomicetos, por ejemplo, se sabe que atributos como la melanización, el engrosamiento de las paredes y la formación de cordones de hifas (rizomorfos) son adaptaciones morfo-funcionales para resistir el estrés hídrico (Fernández & Koide, 2013). Por otra parte, en condiciones de laboratorio se ha visto que, al disminuir la disponibilidad de agua, en periodos de sequía inducidos, las hifas presentan cambios en su morfología y fisiología (Allen, 2006). Morfológicamente, las hifas se enrollan y se pierden las hifas delgadas (Bago, 2002; 2004; de la Providencia et al., 2005) y, fisiológicamente, se pierde vitalidad y el citoplasma se retrae y el protoplasma se fragmenta formando septos como una estrategia para almacenar recursos (Giovanetti et al., 2000). Las revisiones recientes sobre el estudio de AF en hongos micorrízicos (Crowther et al., 2014; Koide et al., 2014; Chagnon et al., 2015; Treseder & Lennon, 2015) plantean que, aunque una comunidad de HMA esté compuesta de diferentes especies, ésta está gobernada por las

mismas presiones de selección (clima, disponibilidad de nutrientes, plantas hospederas), por lo que mostrarán respuestas adecuadas a su ambiente.

Debido al conocimiento limitado de los atributos de respuesta de los HMA, en este trabajo se propuso estudiar 10 atributos del micelio extraradical en comunidades de HMA, provenientes de la sucesión del BTS (**Cuadro 1**), que pueden tener implicaciones en su respuesta a la disponibilidad de agua. Se esperaba que las comunidades de HMA asociadas a etapas sucesionales tempranas mostrarán una estrategia conservativa, caracterizada por presentar un diámetro promedio mas grueso, una mayor proporción de hifas gruesas y una mayor fragmentación del protoplasma para mantenerse en condiciones de estrés hídrico. Las comunidades de HMA asociadas a etapas sucesionales avanzadas mostrarían, en cambio, una estrategia adquisitiva caracterizada por una mayor longitud total del micelio, mayor proporción de hifas finas y mayor vitalidad del micelio para aprovechar una mayor disponibilidad de agua. Se esperaba que con la imposición de un tratamiento de baja disponibilidad de agua estas estrategias (conservativa y adquisitiva) presentaran respuestas más diferenciadas, mientras que al rehumedecerlas las comunidades de HMA asociadas a una estrategia conservativa podrían aprovechar el recurso hídrico cuando lo hay (explotadora) (**Figura 1**).

En este estudio se planteó la pregunta ¿cuáles son los atributos de respuesta del micelio extraradical de las comunidades de HMA provenientes de sitios con diferente edad sucesional del BTS y cómo responden a cambios en la disponibilidad de agua del suelo? El objetivo general fue explorar y analizar las adecuaciones morfo-fisiológicas del micelio extraradical de diferentes comunidades de HMA de un gradiente sucesional del BTS y explorar su estrategia funcional en dos condiciones de humedad del suelo.

Los objetivos particulares fueron:

1. Identificar y cuantificar la respuesta a la humedad de atributos funcionales clave del micelio extraradical de las comunidades de HMA provenientes de un gradiente sucesional del BTS bajo dos condiciones de humedad contrastantes.
2. Evaluar la respuesta funcional (estrategia) del micelio extraradical de las comunidades de HMA provenientes de un gradiente sucesional bajo dos condiciones de humedad contrastantes.

Cuadro 1. Atributos de respuesta analizados en este trabajo. El tipo se refiere a si el atributo es de tipo morfológico (M) o fisiológico (F), la estrategia representa hacia dónde estaría orientado el atributo de acuerdo con su papel funcional: adquisitiva (A), conservativa (C) y/o explotadora (E). Datos sobre el papel funcional con base en: Dodd et al., 2000; Augé 2001 y van der Heijden & Sheublim, 2007

Atributo de respuesta		Tipo	Estrategia			Papel funcional
			A	C	E	
Longitud Total del Micelio		M	X			Optimiza la absorción de nutrientes del suelo
Diámetro promedio		M		X	?	Refleja el estado nutricional y de estrés
Estructura de Micelio	Hifas finas y muy finas	M	X			Especializadas en la absorción de nutrientes
	Hifas medianas y semigruesas	M		?		Especializadas en la exploración del suelo
	Hifas gruesas y muy gruesas	M		X	?	Especializadas en la exploración del suelo
Vitalidad y/o Actividad del micelio		F	X			Mide la cantidad de micelio que está activo
Fragmentación del citoplasma del micelio		F		X	?	Mide el reacomodo del citoplasma en condiciones de estrés

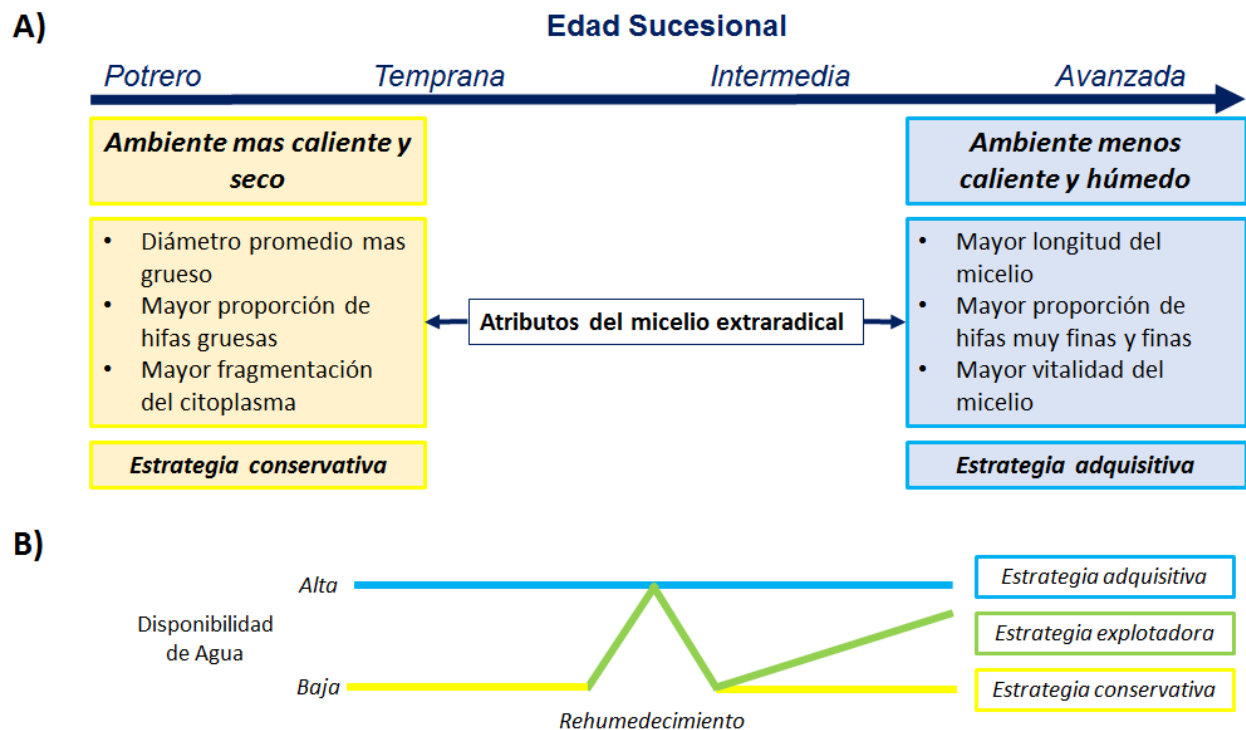


Figura 1. Diagrama de las hipótesis. A) Representa los atributos desarrollados por el micelio extraradical de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en los ambientes mas contrastantes de la sucesión del bosque tropical seco y que a su vez estarían asociados con dos estrategias de aprovechamiento del recurso hídrico: conservativa y adquisitiva, B) representa las estrategias que podrían seguir los atributos funcionales medidos en las diferentes comunidades de HMA en respuesta a dos condiciones contrastantes de humedad y cómo un pulso de agua (rehumedecimiento) podría desencadenar otro tipo de estrategia (explotadora).

MATERIALES Y MÉTODOS

Diseño experimental

Se diseñó un experimento factorial de bloques al azar con dos factores: la comunidad de HMA (con 7 niveles que corresponden a sitios con diferentes edades sucesionales: 0, 6, 8, 19, 21, 34 años y bosque maduro) y la disponibilidad de agua (con dos niveles: alto constante y bajo intermitente). Se prepararon 70 unidades experimentales para los 14 tratamientos resultantes, con 5 repeticiones en cada tratamiento. Se realizó un diseño de bloques para organizar las macetas en el cuarto de crecimiento y poder realizar las actividades largas (extracción e incubación del micelio) avanzando por bloques completos.

Materiales

Sustrato suelo:arena

Se utilizó como sustrato principal un suelo proveniente de una zona cercana a la Estación de Biología Chamela de la Universidad Nacional Autónoma de México, la cual se encuentra en la costa de Jalisco, en el km 59 de la carretera Barra de Navidad – Puerto Vallarta. La vegetación del sitio de colecta de suelo es BTS con perturbación antrópica por estar cerca de la carretera. El suelo se colectó de los primeros 20 cm de profundidad después de retirar el mantillo y las piedras de la superficie. El tipo de suelo es Cambisol háplico con pH de 6.8 a 7.3, con 1.4 – 1.6 % de C total, 0.13 a 0.17% de N total y 691 a 926 $\mu\text{g/g}$ de P total (Murguía-Flores, 2013). El suelo se tamizó a través de una malla de 5 mm, se secó al aire y se mantuvo en una autoclave a 120°C y 1.5 kg/cm^2 de presión durante 1 hr. Posteriormente, se dejó enfriar y airear por 24 horas para evitar toxicidad y se repitió el procedimiento anterior dos veces más. Este tratamiento se realizó para eliminar los propágulos de los HMA nativos del suelo que se utilizó como sustrato. Posteriormente, se

mezcló homogéneamente con arena de sílice lavada y esterilizada en proporción 1:1 (v/v) con el fin de facilitar la extracción del micelio. La mezcla suelo:arena tenía una capacidad de campo de $25\% \pm 2.8$ de humedad. Este sustrato permitió que todas las unidades de experimentales tuvieran condiciones de crecimiento similares.

Inóculos con las comunidades de HMA

El inóculo micorrízico se obtuvo de 6 sitios con diferentes edades de regeneración natural (0, 6, 8, 19, 21 y 34 años) y de un sitio de bosque maduro (BTS) para incluir varias comunidades provenientes de condiciones ambientales presuntamente distintas, como consecuencia de los cambios en la vegetación y en el suelo de las diferentes etapas sucesionales. El inóculo de cada sitio se colectó de 15 puntos distintos en una parcela de 10 x 15 m en los primeros 20 cm de suelo libre de hojarasca. Con estas 15 muestras de aproximadamente 500 g se hizo una mezcla compuesta que se combinó con 3 kg sustrato estéril para establecer cultivos trampa con maíz y plantas de la región. Los cultivos trampa se mantuvieron en el vivero de la Estación de Biología Chamela durante 8 meses para obtener inóculos con abundantes propágulos activos para el experimento. Se colocaron 300 gr de inóculo en el compartimento de la planta (**Figura 2**) de forma estratificada, es decir, una capa de suelo estéril, una capa de inóculo y así sucesivamente. El inóculo se colocó a la altura de la unión con el compartimento de solo hongos. Las características del inóculo y de los sitios seleccionados se resumen en el **Cuadro 2**.

Cuadro 2. Caracterización de los sitios de estudio y de la composición del inóculo micorrízico

Edad Sucesional	Cobertura	Ubicación	Método de conversión	Riqueza de Plantas		Riqueza de HMA (Orden)			
				L	H	G	D	A	E
0	Pastizal Activo	19° 35' 43.00" 105° 02' 31.28"	Roza-Tumba-Quema	10 a 15	20 a 32	16	9	-	1
6	Regeneración temprana	19° 34' 51.20" 105° 03' 38.20"	Roza-Tumba-Quema	15 a 24	22 a 30	17	12	-	-
8	Regeneración temprana	19° 36' 02.50" 105° 03' 37.30"	Roza-Tumba-Quema			15	6	1	-
19	Regeneración intermedia	19° 35' 32.80" 105° 00' 32.70"	Roza-Tumba-Quema	25 a 30	25 a 32	18	9	1	1
21	Regeneración intermedia	19° 35' 55.20" 105° 02' 53.50"	Roza-Tumba-Quema			14	7	-	1
34	Regeneración avanzada	19° 38' 47.73" 105° 10' 31.13"	Aclareo con Bulldozer	46	ND	13	8	-	1
NC	Bosque Tropical Seco	19° 29' 56.20" 105° 02' 29.80"	Reserva Natural	23 a 27	22 a 27	14	8	-	-

NC=No conocida, L=Leñosas en 0.1 ha, H= Herbáceas en 1 m². Los datos de vegetación provienen de Triller et al., 2015; Mora et al., 2014; Ocampo, 2012; Maza-Villalobos et al., 2011a, b; Romero-Duque et al., 2007. G=Glomerales, D=Diversisporales, A=Archaeosporales, E=Entrophospora (Carrillo-Saucedo et al., 2018).

Modelo de maceta

Se construyeron macetas con tubos de PVC conectados para formar dos compartimentos (**Figura 2**). El *compartimento uno o compartimento de la planta* contenía 3 kg de mezcla suelo:arena y 400 g del inóculo correspondiente para cada maceta, el cual fue añadido en capas únicamente en el compartimento de la planta; este compartimento siempre se mantuvo a una humedad constante del 25%. El *compartimento dos o compartimento del micelio* contenía 1 kg de la mezcla de suelo:arena y fue diseñado especialmente para aislar el crecimiento del micelio extraradical micorrízico del compartimento uno y así aplicar los tratamientos de agua solo al micelio. Este compartimento estaba separado del compartimento uno por una barrera con un grosor de 3 mm creada con dos rejillas plásticas pegadas, con un espacio aéreo entre sí y forradas con doble capa de malla plástica de 35

µm de apertura cubriendo las rejillas por los dos lados, modificando ligeramente el diseño propuesto por Ruth et al. (2011). El espacio de aire creado entre los compartimentos sirvió como una barrera que evitó el movimiento del agua entre ellos. Esto permitió evaluar las respuestas de las comunidades de HMA sin que se alteraran las relaciones hídricas de la planta hospedera. La doble malla permitió, asimismo, solo el paso del micelio extraradical que se desarrolló a partir del compartimento de la planta, pero no el paso de las raíces, de modo que la parte del micelio que cruzó la barrera quedó conectado a la planta, pero aislado. Así se controló de manera independiente la humedad en ambos compartimentos. El extremo del compartimento lateral con micelio se cubrió con tela de organza para permitir la transpiración y respiración del suelo. Ambos compartimentos contaron con agujeros de drenaje.

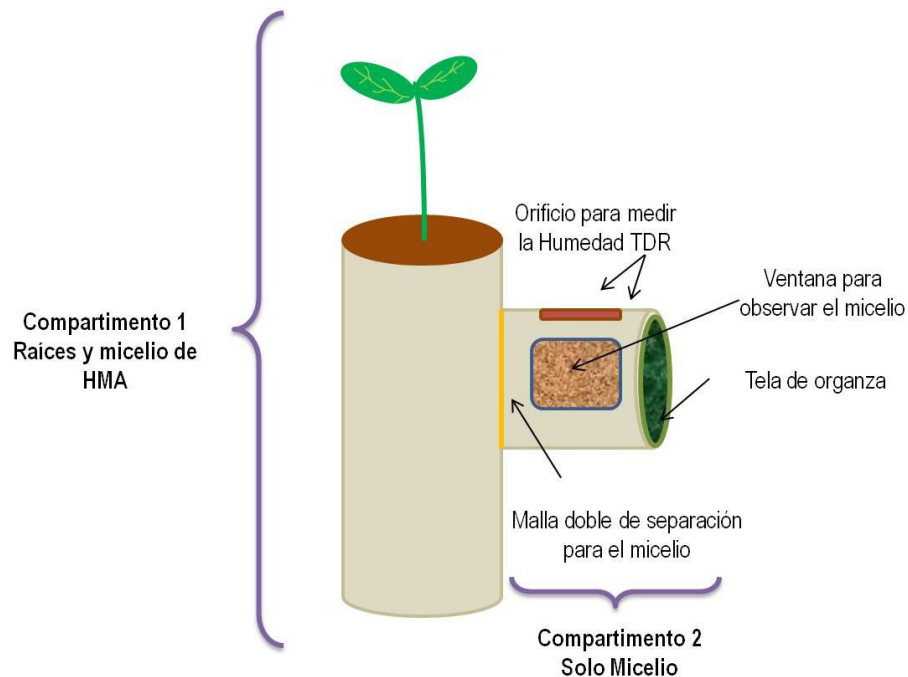


Figura 2. Modelo de maceta utilizado para este experimento.

En el compartimento 1 se sembraron 2 plántulas de la especie arbórea *Caesalpinia eriostachys* Benth., que es una especie con buena colonización micorrízica y una amplia distribución en todas las etapas de regeneración natural del BTS, ya sea por rebrote o por semilla. Las plántulas fueron germinadas en arena de sílice estéril dentro de un invernadero de la estación de Biología de Chamela y tenían un mes de edad al trasplante. Una vez que las plántulas se establecieron en el compartimento uno, se dejó solo una plántula por maceta.

Tratamientos de disponibilidad de agua

Los tratamientos de disponibilidad de agua se seleccionaron con base en una curva de liberación de agua de la mezcla suelo:arena, para elegir una condición sin estrés hídrico y una con estrés hídrico (**Figura 3**). Esta curva determina el porcentaje de humedad en el que el agua está disponible para las plantas, es decir, el punto de marchitez permanente (PMP) con un potencial hídrico de -1.5 MPa. La curva se realizó de acuerdo con la metodología de Campbell (2001) en condiciones de laboratorio, utilizando un medidor de potencial hídrico de suelo (WP4-T, Decagon Devices Inc).

Los tratamientos de disponibilidad de agua seleccionados fueron: a) alto y constante al 100% de la capacidad de campo (CC), que corresponde a un porcentaje de humedad del suelo de 25%, con un potencial hídrico del suelo de -0.3 MPa y b) bajo e intermitente, que tuvo periodos de disponibilidad de agua alta (25%) combinados con periodos de disponibilidad baja, al 30% de la CC, que corresponde a un porcentaje de humedad 7.5% y alrededor -1.5 MPa en potencial hídrico (**Figura 3**). Sin embargo, durante el experimento, la disponibilidad de agua en el tratamiento bajo-intermitente solo bajó al 10% de humedad (**Figura MS1**).

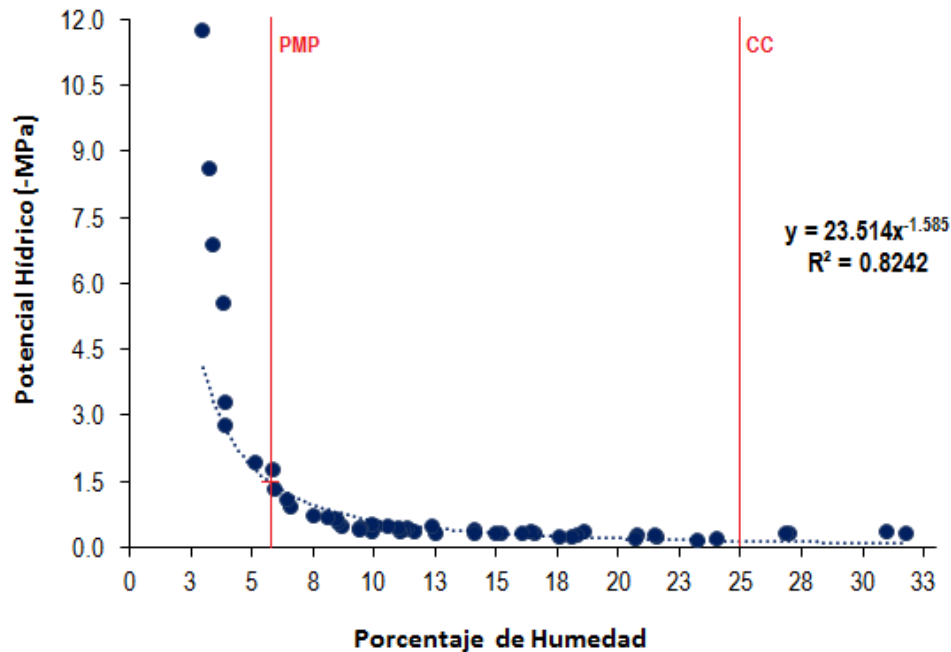


Figura 3 Curva de liberación de agua del suelo realizada experimentalmente con un medidor de potencial hídrico (WP4-T Decagon Devices, Inc. Washington, EUA).

Montaje del experimento

El experimento se mantuvo en un cuarto de crecimiento en el Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad en Morelia, Michoacán. La temperatura promedio fue de 25°C en el día y 21°C en la noche con una humedad relativa del 50% en el día y 60% en la noche. El fotoperiodo fue de 12 h con una radiación fotosintética activa promedio de 300 $\mu\text{moles m}^{-2} \text{s}^{-1}$. Las unidades experimentales se colocaron en bloques en el cuarto de crecimiento y se rotaron cada dos semanas. Las macetas fueron trasladadas a un invernadero del mismo Instituto en el día 24, debido a problemas técnicos con el cuarto de crecimiento; permanecieron ahí durante dos semanas y fueron regresadas al cuarto de crecimiento. Para monitorear el contenido de humedad de las macetas se utilizó un reflectómetro de dominio temporal (Time Domain Reflectometry, TDR Soil Moisture Meter, Marca Field Scout™). El monitoreo se llevó a cabo cada tercer día.

Paralelamente al experimento, se pusieron tres macetas adicionales con las mismas características que las del experimento, pero sin planta para monitorear la pérdida de humedad. A esas macetas se les midió diariamente el contenido de humedad de cada compartimento y se registraron los pesos. Este procedimiento permitió relacionar la cantidad de humedad (g) que se perdía con el porcentaje de humedad del TDR, de tal manera que al medir el porcentaje de humedad de las macetas de experimentación pudimos saber cuántos g de agua era necesario añadir para mantener los tratamientos a la humedad deseada.

Las plantas se mantuvieron en crecimiento durante 6 meses con riego constante sin limitación de agua (25%) para asegurar que el micelio migrara al compartimento del micelio, ya que *C. erioistachys* es una planta de crecimiento lento. Se tomó una muestra para verificar que el compartimento del micelio tuviera micelio activo.

La muestra se tomó con un nucleador de metal de 1.5 cm de diámetro x 12 cm de largo, que se deslizó horizontalmente procurando perturbar lo menos posible la matriz de suelo. Después de cada toma de muestra, el agujero se rellenó con la misma mezcla suelo:arena estéril para mantener el suelo en su lugar y las condiciones originales. La muestra se usó para analizar variables morfológicas (longitud del micelio y su proporción por categoría diamétrica) y fisiológicas, (porcentaje de hifas activas, vitalidad y fragmentación del citoplasma en el micelio). Se utilizaron submuestras de 5 g de suelo para extraer el micelio y 5 g para calcular el contenido de humedad de la muestra en el día de la cosecha. El resto de la muestra se almacenó a -4 °C para repetir mediciones en caso necesario.

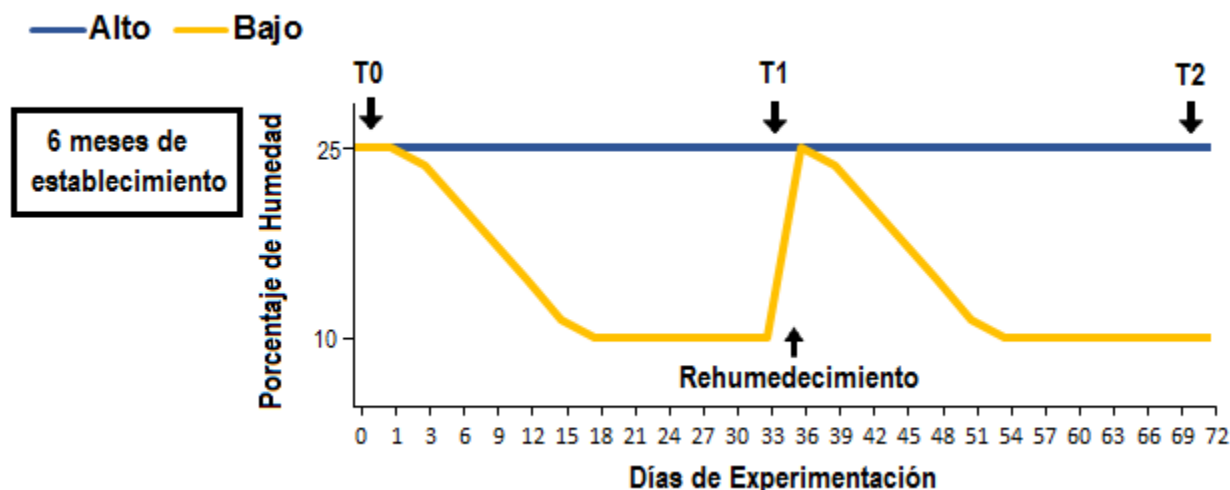


Figura 4. Plan de muestreo luego de 6 meses de establecimiento de las plantas de *Caesalpinia eriostachys*. T0, T1 y T2 representan los días en los que se tomó la muestra. T1=34 días y T2=72 días. Línea azul: tratamiento alto-constante, línea amarilla: tratamiento bajo-intermitente.

Extracción de micelio y tinción vital con succinato

Para medir la longitud total del micelio, el mismo día de la cosecha del núcleo del suelo se extrajo el micelio de acuerdo con la metodología propuesta por Miller y Jastrow (1998). El micelio se incubó para evaluar su vitalidad mediante el método de tinción vital con succinato y nitrotetrazolio (Shaffer & Petterson, 1993; Saito et al., 1993). Esta técnica permite observar los precipitados de formazán que se forman en las zonas donde hay respiración, lo que significa que el micelio está vivo y activo. Posteriormente, el micelio teñido se cuantificó por microscopía con el método de intersección de Jakobsen (1998), contando el micelio retenido en los filtros de nitrocelulosa y separando en la cuenta las intersecciones totales, las intersecciones con hifas activas (depósitos de formazán) y las intersecciones con y sin fragmentación del citoplasma activo (con o sin espacios entre los depósitos de formazán). Al tiempo 0 del experimento se hizo un conteo de micelio presente en el suelo cuyo promedio se restó al tiempo 1 y tiempo 2. Por cuestiones logísticas de la técnica se

trabajo en bloques y la cosecha e incubación de todos los núcleos de suelo se completó en dos días.

Análisis de imágenes WinRhizo

Para cuantificar las variaciones morfológicas en la estructura del micelio extraradical, se tomaron fotografías con una cámara Olympus adaptada a un microscopio compuesto marca Carl Zeiss con un objetivo de 20X más un aumento de 7X dado por el zoom de la cámara. Se tomaron fotografías de alta resolución a 50 campos visuales de cada muestra. Para seleccionar los campos visuales, se tomó en cuenta: 1) que el micelio estuviera bien disperso y que cubriera más del 50% del campo de observación y, 2) que el campo visual estuviera libre de basura como partículas de suelo y materia orgánica. Para estar seguros que el micelio observado pertenecía a los HMA, se tomó en cuenta 1) que las hifas carecieran de septos regulares y, 2) que tuvieran sus proyecciones angulares unilaterales características (tortuosidad) (Smith & Read, 2008). Se eligieron 10 de las 50 fotografías que cumplieran los criterios. Estas fotografías se editaron previamente para limpiarlas de basura y partículas del suelo con el software Adobe Photoshop CS3 Extended Version. Las hifas se redibujaron en color negro con pinceles de diferente grosor y utilizando la función automática, de acuerdo a su tamaño, con el fin de lograr una imagen de las hifas con la mejor claridad posible antes de analizarlas (**Figura 5 a y b**). Las imágenes se analizaron con el programa Win Rhizo el cual fue calibrado con fotografías de una reglilla micrométrica tomadas con el mismo objetivo y aumento que las fotografías de las muestras. En total se analizaron 2100 fotografías.

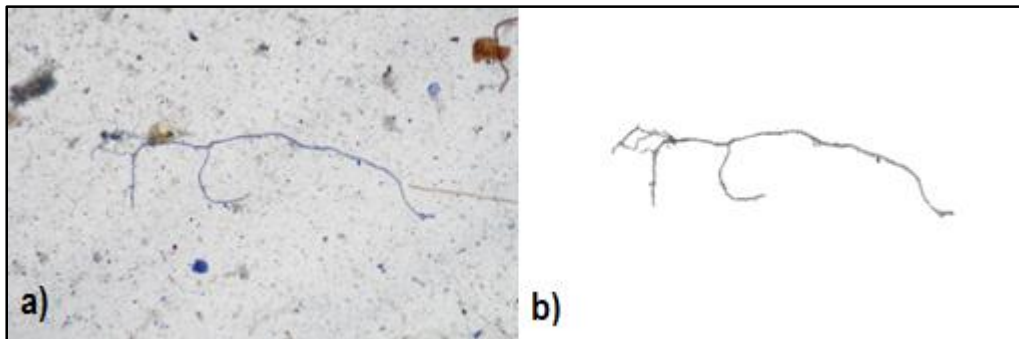


Figura 5. Imágenes de las hifas antes de ser analizadas con el programa de WinRhizo, **a)** fotografía tomada al microscopio 20X, **b)** imagen obtenida después de la limpieza con Adobe Photoshop CS3 Extended Versión.

En las 2100 fotografías, se midieron las siguientes variables: diámetro promedio (μm) y proporción de hifas por categoría diamétrica. La proporción de hifas por categoría diamétrica se separó en seis subgrupos con base en sus funciones, las muy finas (0-7.5) y finas (7.5-12.5 μm), que son las responsables de la absorción, las medianas (12.5-17.5) y semigruesas (17.5-22.5 μm), que son las responsables de la exploración del suelo y las gruesas (22.5-27.5) y muy gruesas (>27.5 μm) que son las hifas que podrían indicar engrosamiento debido al estrés (Dodd et al., 2000; Allen, 2006; Smith & Read, 2008).

A partir de que se comprobó que había micelio activo en el compartimento 2 comenzaron los tratamientos de humedad (Tiempo 0). El tratamiento con riego alto-constante (25% de humedad) se mantuvo durante los 72 días siguientes. Para el tratamiento con riego bajo-intermitente se dejó de regar hasta obtener el porcentaje de humedad deseado del 10% de humedad (≈ 12 días) y se mantuvo esta condición con riego dosificado durante 20 días. Después de este periodo, se rehumedeció el suelo nuevamente hasta el nivel alto y se repitió el periodo de sequía una vez más. Se tomaron muestras del suelo de 20 g en el compartimento del micelio a los días 34 y 72 (T1 y T2), es decir, al terminar cada periodo

de desecación del tratamiento mixto y se procesaron de la misma manera que para el tiempo 0 (**Figura 4**).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se ajustaron modelos lineales generalizados mixtos (GLMM, en inglés) para explicar la variación de los atributos de respuesta analizados. Los predictores de los efectos fijos fueron 1) el nivel de humedad (H), 2) la fecha de medición (D) y 3) la edad sucesional de la maceta (E). Los efectos aleatorios fueron la comunidad y la maceta, pues las mediciones se llevaron a cabo en la misma unidad experimental con inóculo procedente de una muestra compuesta. Todas las variables analizadas fueron ajustadas con el modelo completo, es decir, el que incluía todas las interacciones (Ecuación 1).

Ecuación 1

$$\text{Atributo de respuesta}_i = \beta_0 + \beta_1 \text{Edad Sucesional} * \beta_2 \text{Nivel de Humedad} * \beta_3 \text{Días} + b_i(\text{Maceta}) + \text{Error}_i$$

Donde:

β_0 = *Intercepto*

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$ = *Parámetros*

X_1, X_2, X_3 = *Variables predictoras*

b_i = *Varianza asociada al factor aleatorio_i*

Error_i = *Variación que no puede explicarse*

Para la inferencia estadística, se utilizó una aproximación de selección de modelos basada en la minimización del Criterio de Información de Akaike para muestras pequeñas (AICc) (Anderson, 2008). Este tipo de inferencia explica procesos ecológicos complejos donde la hipótesis nula del “no efecto” tiene poco valor y se analizan un conjunto de hipótesis alternativas de interés, de tal manera que una variable de respuesta puede ser

explicada en función de uno o varios predictores (Anderson, 2008). En todas las variables de respuesta se ajustó el modelo completo (Ecuación 1) el cual fue reducido. Con base en el valor del AICc se seleccionaron aquellos modelos que tuvieran una diferencia menor a dos unidades (ΔAICc) con respecto al modelo con el AICc más bajo. Los modelos con $\Delta\text{AICc} < 2$ son considerados como modelos con un soporte muy similar al del mejor modelo ($\text{AIC}_{\min}$) (Barham & Anderson, 2002; Anderson, 2008). Una vez que se obtuvieron los mejores modelos con un $\Delta\text{AICc} < 2$ para cada variable, se obtuvo su valor de R^2 para GLMM con el fin de evaluar la capacidad explicativa de los modelos. El valor de R^2 puede calcularse tanto para evaluar la capacidad explicativa de los efectos fijos (R^2_m), como para los efectos aleatorios (R^2_c) (Nakagawa & Schielzeth, 2013).

Las variables de proporción por categoría diamétrica de hifas fueron transformadas con logit para mejorar la distribución de los residuales. Las variables proporción de hifas activas e hifas fragmentadas fueron analizadas con un modelo mixto con distribución binomial debido a la naturaleza de los datos (Pinheiro & Bates, 2000). Los análisis se realizaron utilizando el programa R; para el ajuste de los GLMM se utilizaron las funciones lmer y glmer del paquete lme4 (Bates et al., 2018); para la selección de modelos con $\Delta\text{AICc} < 2$ se utilizó la función dredge y para obtener el valor de R^2 se utilizó la función r.squaredGLMM, ambas dentro del paquete MuMIn (Barton et al., 2018).

RESULTADOS

Todas las variables presentaron de 1 a 5 modelos como igualmente probables ($\Delta AIC < 2$). Los predictores humedad (H) y edad sucesional de procedencia del inóculo (E) estuvieron dentro del grupo de mejores modelos, aunque con un peso menor (**Cuadro 3**). El efecto fijo días de experimentación (D) estuvo presente en todos los modelos probables y fue el de mayor peso para todas las variables, por el crecimiento continuo normal del micelio (**Figura 6**). Sin embargo, no hubo interacciones del tiempo con los otros predictores que indicaran una alteración diferencial del ritmo de crecimiento por la edad sucesional o el nivel de riego (**Cuadro 3**).

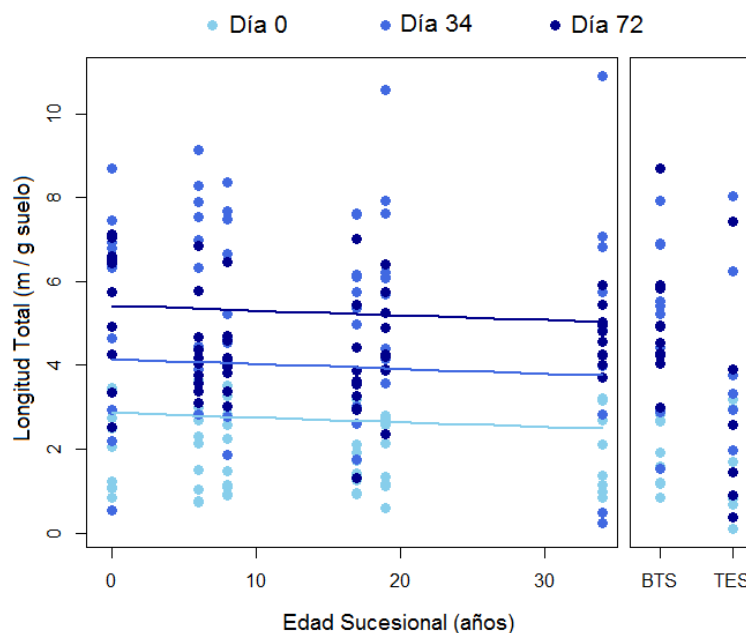


Figura 6. Longitud total del micelio durante las tres fechas de medición. N=228.

Cuadro 3. Modelos explicativos mas probables con base en el criterio de información de Akaike para muestras pequeñas (AICc). Se presentan los modelos que tienen un $\Delta AIC < 2$ para cada variable de respuesta. T= Transformación, NA= no aplica, E= Edad de procedencia del inóculo, D=Días de experimentación y H=Tratamiento de humedad.

Variable de respuesta	T	Predictores e interacciones							$\Delta AICc$	Peso	R^2_m	R^2_c
		D	E	H	D*E	D*H	E*H	D*E*H				
Longitud total de micelio (m/g suelo)	NA	*							0.00	0.284	0.453	0.467
		*		*					0.32	0.243	0.457	0.474
		*	*						1.17	0.159	0.455	0.474
		*	*	*					1.47	0.136	0.459	0.476
Diámetro promedio (μm)	NA	*							0.00	0.327	0.041	0.125
		*		*		*			1.17	0.182	0.065	0.162
Proporción hifas muy finas (0 a 7.5 μm)	Logit	*							0.00	0.433	0.045	0.045
		*	*						1.68	0.187	0.047	0.047
Proporción hifas finas (7.5 a 12.5 μm)	Logit	*							0.00	0.279	0.149	0.150
		*	*		*				0.30	0.240	0.172	0.186
		*		*					1.73	0.118	0.155	0.155
Proporción hifas medianas (12.5 a 17.5 μm)	Logit	*							0.00	0.255	0.051	0.087
		*	*		*				0.97	0.157	0.059	0.098
		*	*						1.63	0.113	0.079	0.118
		*		*					1.98	0.095	0.051	0.086
Proporción hifas semigruesas (17.5 a 22.5 μm)	Logit	*	*	*	*	*	*	*	0.00	0.881	0.167	0.167
Proporción hifas gruesas (22.5 a 27.5 μm)	Logit	*							0.00	0.164	0.021	0.021
		*	*	*			*		0.56	0.124	0.049	0.049
		*	*	*		*	*		0.81	0.109	0.067	0.067
Proporción hifas muy gruesas (> 27.5 μm)	Logit	*		*		*			0.00	0.219	0.057	0.223
		*	*	*		*	*		0.87	0.142	0.070	0.239
		*	*	*		*			1.19	0.121	0.063	0.234
		*		*					1.28	0.116	0.032	0.189
		*							1.34	0.112	0.023	0.183
Actividad del micelio (% hifas activas)	Binomial	*	*						0.00	0.340	0.013	0.027
		*	*	*					1.08	0.198	0.014	0.027
		*							1.74	0.143	0.009	0.027
Fragmentación del protoplasma (% hifas con fragmentación)	Binomial	*							0.00	0.390	0.379	0.379
		*	*						1.27	0.207	0.381	0.381
		*		*					1.92	0.150	0.380	0.380

*= predictores e interacciones mas probables para cada modelo

Atributos funcionales de respuesta a la humedad

En general, las evidencias no mostraron cambios drásticos en los atributos funcionales de respuesta al disminuir el riego, ni interacciones con el tiempo transcurrido o la edad sucesional de las comunidades de HMA. El atributo longitud total del micelio, fue el que mostró mayor evidencia de cambio en el tratamiento de baja humedad. La humedad en este atributo, tuvo un peso semejante al modelo que solo incluyó a los días de experimentación (0.243 vs 0.284) y además presentó un buen ajuste con respecto a sus predictores ($R^2_m > 0.457$) (**Cuadro 3**). El micelio creció más en la condición alta que en la baja, principalmente a los 34 días de tratamiento (**Figura 7**). Por su parte, el diámetro promedio presentó en general valores más altos en el tratamiento de riego bajo a los 72 días, pero el ajuste del modelo fue bajo ($R^2_m = 0.057$ y 0.065 respectivamente) (**Figura 8**).

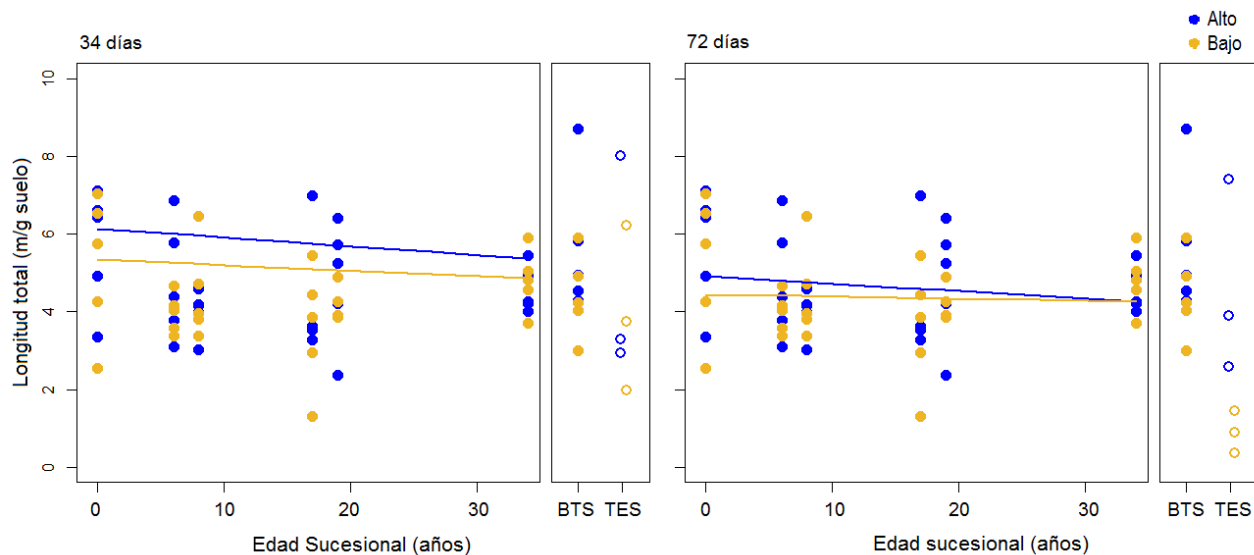


Figura 7. Longitud total (m g^{-1} de suelo) en función de la edad sucesional para el T1 (34 días) y el T2 (72 días). La caja a la derecha muestra los valores de referencia de los tratamientos bosque maduro (BTS) y testigos (TES) que no tienen asociada una edad sucesional y son valores de referencia que no se consideraron en los análisis estadísticos. $N=152$.

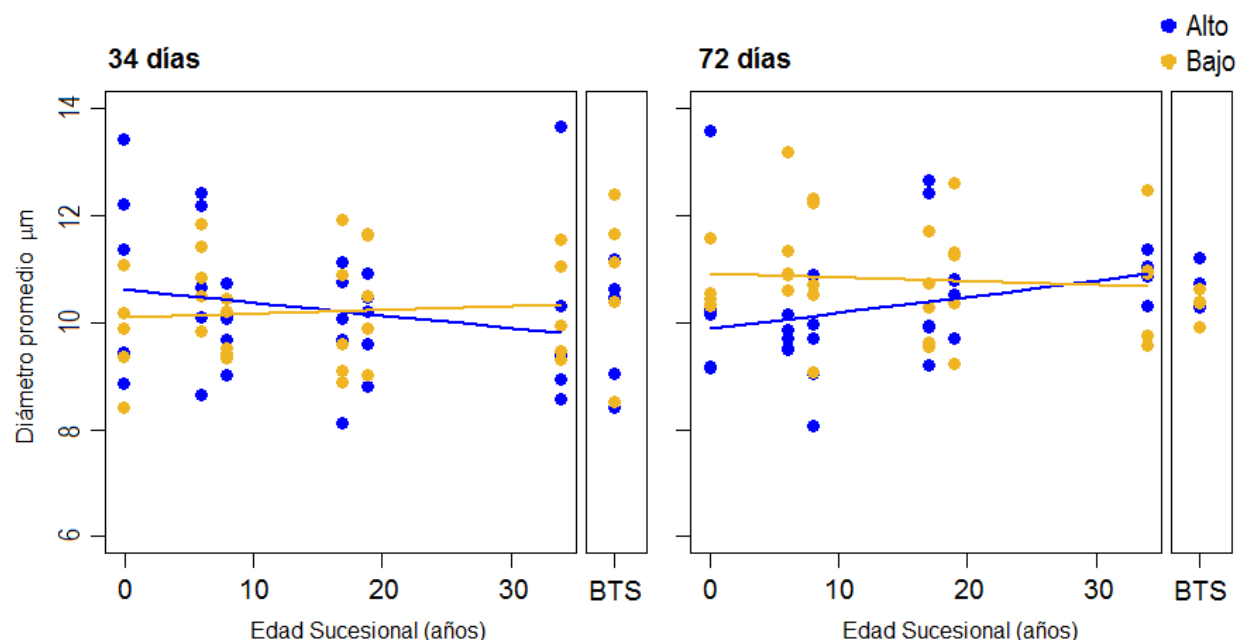


Figura 8. Diámetro promedio (μm) en función de la edad sucesional para el T1 (34 días) y el T2 (72 días). La caja representa los valores de referencia del bosque maduro (BTS) que no se consideraron en los análisis estadísticos, N=140.

Atributos funcionales de respuesta a la edad sucesional

La distribución del micelio extraradical en las categorías diamétricas fue muy consistente en todas las edades sucesionales (**Figura 9**). La mayor proporción de la longitud se concentró en los diámetros entre 7.5 y 22.5 micras y la categoría 17-22.5 micras representó casi la mitad de la longitud de micelio examinada en las unidades experimentales inoculadas con todas las comunidades de HMA. La proporción de hifas finas presentó una tendencia de aumento con la edad sucesional a los 34 días, sin embargo, el ajuste del modelo fue bajo ($R^2_{\text{m}} = 0.149$) (**Figura MS2**).



Figura 9. Promedios de la proporción de longitud de micelio que se encontró en cada categoría diamétrica. Los números representan la edad sucesional de la comunidad de HMA inoculada. A= Tratamiento Alto-Constante, B= Tratamiento Bajo-Intermitente, BTS = Bosque Maduro

La proporción de hifas activas que mide la vitalidad del micelio fue baja en general (1 al 12%) durante todo el experimento (**Figura 10a**). El porcentaje de hifas con protoplasma fragmentado, que mide el reacomodo del protoplasma dentro del micelio fue en aumento durante el experimento y con una tendencia a la baja con respecto a la edad sucesional ($R^2_m = 0.38$) (**Figura 10b**). No se encontró evidencia de cambios fuertes en relación a la edad sucesional o al nivel de riego en la proporción de hifas activas (**Cuadro 3**).

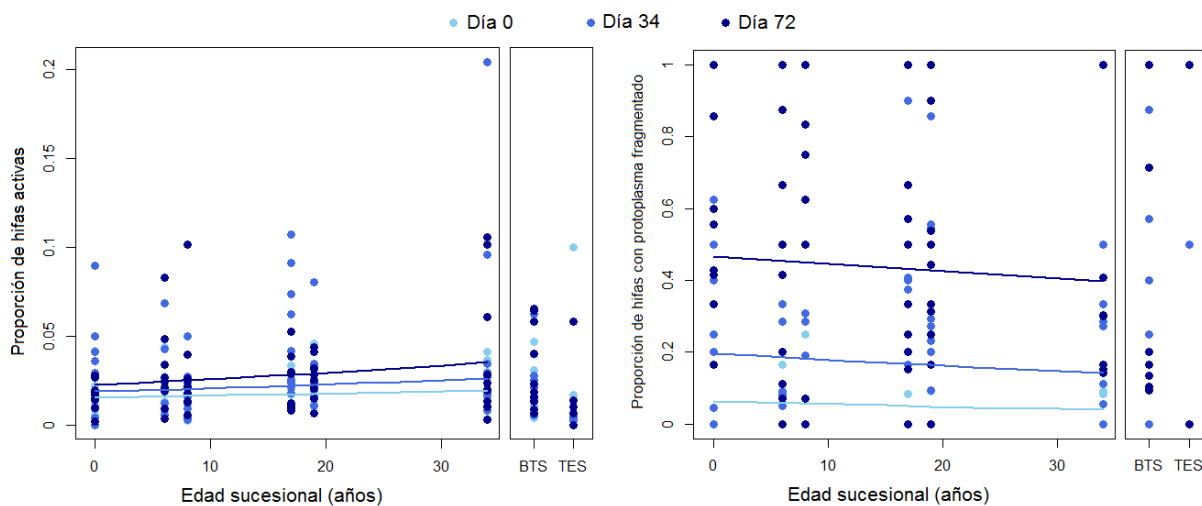


Figura 10. Proporción de hifas activas e hifas con protoplasma fragmentado en función de la edad sucesional para el T0 (Día 0), T1 (34 días) y el T2 (72 días). La caja representa los valores de referencia del bosque maduro (BTS) y del testigo (TES) que no se consideraron en los análisis estadísticos. N= 152.

DISCUSIÓN

Este es el primer estudio que investiga los efectos de una reducción en la disponibilidad de agua del suelo sobre los atributos morfológicos y fisiológicos del micelio extraradical de los HMA a nivel de la comunidad. Aunque existen algunos estudios previos, estos se enfocaron principalmente en estudiar el micelio de unas cuantas especies en condiciones de cultivos monoxénicos o *in vitro* (Bago et al 1998, Dood et al., 2000; Fitter, 1997; Friesse & Allen, 1991; Souza & Declerk, 2003) o en comunidades con arreglos filogenéticos manipulados experimentalmente (Maherali & Klironomos, 2007). En nuestro caso, trabajamos con comunidades provenientes de un entorno particular, a través de una cronosecuencia de regeneración del BTS, donde los cambios en las especies de las comunidades de plantas y HMA se han dado de manera natural, para de esta forma tratar de entender la respuesta de dichas comunidades a las variaciones ambientales.

Atributos de respuesta

El estudio mostró una estabilidad sorprendente de los atributos medidos en el micelio de siete comunidades bajo diferentes tipos de coberturas (cronosecuencia de estados sucesionales y bosque maduro) y cambios mínimos cuando se aplicó el tratamiento de reducción de riego.

En la literatura, el atributo de longitud total de micelio extraradical es muy utilizado para entender las funciones de los HMA como la adquisición de recursos del suelo (Auge, 2001; Schnep et al., 2008; van der Heijden & Sheublin, 2007). En este estudio, también fue el atributo que respondió a las diferencias en la humedad, que refleja la acumulación de

ajustes que no fueron visibles en las diferentes categorías diamétricas por separado, pero que sumadas mostraron una reducción en el tratamiento de riego bajo. En general no hubo un cambio drástico en la estructuración del micelio y la proporción del micelio examinado en las categorías diamétricas medidas se mantuvo similar en los dos tratamientos de riego y de inoculación con todas las comunidades de HMA. Al igual que en el estudio de Leyva (2013), la longitud del micelio fue en aumento hasta el final del experimento como parte de su crecimiento normal, aunque en nuestro caso con mucha variación. El mayor incremento se presentó durante los primeros 34 días del experimento lo que significó que el micelio estuvo explorando el suelo. Nuestros valores de longitud total (1.8 a 8.0 m/g suelo) estuvieron dentro de los rangos encontrados en otros estudios para distintas especies (Hart & Reader 2002; Maherali & Klironomos 2012).

En cuanto al diámetro de las hifas (**Figura MS2**), las categorías diamétricas máximas ($>27\ \mu\text{m}$) fueron mayores a las reportadas en la literatura (15 a $20\ \mu\text{m}$) para especies de HMA en cultivos monoxénicos (de una especie en sustrato puro) o *in vitro* (Nicolson 1959; Friesse & Allen, 1991; Bago et al., 1998; Lehman et al., 2017). La mayor proporción del micelio se encontró en categorías gruesas y la mitad del micelio entre 12 y 22 micras de diámetro. Quizás estos valores diamétricos más grandes pueden deberse a que el sustrato donde crecieron los HMA fue suelo, pues se ha demostrado que para estructuras como las esporas de HMA un sustrato de agar reduce su tamaño promedio (Bago et al., 2004). Además, es posible que como el ecosistema de BTS se caracteriza por una errática disponibilidad de agua (Maass & Burgos, 2011) mayores diámetros podrían ayudar a reducir la exposición a un entorno desecante, como se ha observado en hongos ectomicorrízicos (Boddy, 1999; Koide et al., 2013).

Estrategias de respuesta a la humedad durante la sucesión

Hipotetizamos que dependiendo de la edad de procedencia del inóculo podríamos encontrar diferencias en la respuesta de las comunidades de HMA a la disponibilidad de agua del suelo. Sin embargo, no encontramos estrategias claras con respecto a la mayoría de los atributos. Si bien atributos como la longitud total y la proporción de hifas finas respondieron a la humedad, lo hicieron en direcciones diferentes. La longitud total, fue mayor en condiciones de humedad alta (estrategia adquisitiva), es decir, el micelio de las comunidades de HMA creció más cuando no estuvo limitado por la humedad, sin importar la edad de procedencia del inóculo. La proporción de hifas con protoplasma fragmentado, y la proporción de hifas finas (en menor medida), mostraron una estrategia conservativa con respecto a la edad sucesional, es decir, había más proporción de hifas finas en edades sucesionales avanzadas y mayor % de micelio con protoplasma fragmentado en edades sucesionales tempranas como se esperaba.

La consistencia en la proporción de micelio en las categorías diamétricas en todas las comunidades de HMA pudo deberse a tres factores principales: la composición de especies del inóculo, la plasticidad funcional de la comunidad de HMA en respuesta al ambiente y a la interacción con su hospedero. En este estudio, la composición de las comunidades de HMA en cuanto a su riqueza de especies y familias no fue tan distinta como se esperaba (Carrillo et al., 2018). Esta información no se conocía al inicio del experimento y se suponían mayores variaciones entre las comunidades de HMA (Allen et al., 2003; Gavito et al., 2008). Quizá las respuestas a la humedad de las especies de estas comunidades sean complementarias, como se ha visto en atributos como la longitud del micelio y la captura de P, que se conservan a nivel de familia (Maherali & Klironomos, 2007) o a la alta variabilidad intraespecífica de este grupo (Munkvold et al., 2004).

Por otra parte, aunque la respuesta de los atributos de los hongos puede estar sujeta a las condiciones de su entorno (Boddy, 2001; Hawkes & Keitt, 2005), los hongos también se caracterizan por su versatilidad en la construcción del micelio bajo distintas condiciones ambientales. En un estudio reciente dónde se evalúan los atributos morfológicos del micelio de 31 especies, de manera individual, de hongos pertenecientes a tres grandes grupos (Ascomycota, Basidiomycota y Mucoromycota) no se encontró evidencia de síndromes funcionales (Lehmann et al., 2018). Entonces, puede que la falta de estrategias sea similar para todos los hongos incluyendo a los Glomeromycota. Por otra parte, en un ambiente sujeto de manera natural a ciclos de sequía-humedad como el BTS, las comunidades de HMA de las diferentes etapas podrían beneficiarse de maximizar su flexibilidad al desempeñarse bajo diferentes condiciones y aprovechar al máximo los recursos a su alcance (agua), como se ha visto en otros grupos de hongos (Wrozek et al., 2017).

En cuanto, a las interacciones con su hospedero, se sabe que los HMA proveen agua y nutrientes a las plantas a través de sus redes miceliares en condiciones de estrés (Eguerton-Warburton et al., 2007). En este experimento, partimos del hecho de que la planta no estuvo en estrés y el diseño de la maceta evitó la transferencia de agua entre compartimentos. Es posible, sin embargo, que la planta suministrara agua a su simbionte para mantener su asociación durante el tratamiento de humedad baja (Querejeta et al., 2003).

Aún hace falta evaluar otro tipo de atributos que analicen otros aspectos metabólicos, además de la vitalidad y la continuidad en el protoplasma, para lidiar con el estrés, como por ejemplo la síntesis de osmolitos o de melanina (Hohmann, 2002; Kogej, 2007). O, probar con condiciones de estrés hídrico mas negativo. También es deseable combinar

atributos morfológicos con herramientas moleculares que permitan capturar la diversidad funcional (Chagnon et al., 2013).

CONCLUSIONES

Los atributos que mejor respondieron a la humedad fueron: la longitud total del micelio y la proporción de hifas muy gruesas, lo que indica que este tipo de atributos podrían considerarse relevantes para realizar estudios futuros más detallados de respuestas de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en las variaciones en la disponibilidad de agua.

No se identificaron estrategias claras de respuesta a la humedad con respecto a la edad sucesional de procedencia del inóculo. Lo anterior puede ser reflejo de que la composición de las especies fue muy similar, por lo que sus respuestas se mantienen sin cambios notables frente al manejo y sucesión del bosque tropical seco. Sin embargo, el nivel de estrés hídrico que se logró en el experimento fue bajo y es posible que este nivel no representara una condición crítica para los HMA, por lo que en estudios futuros sería necesario evaluar condiciones de estrés que alcanzaran potenciales hídricos que limitaran la disponibilidad de agua para los hongos.

AGRADECIMIENTOS

A Ricardo Leyva, Andrea Raya y Eloy Rubicel Pat por su apoyo en el cuidado y montaje de los experimentos. A Francisco Mora Ardila por su asesoría en los análisis estadísticos.

REFERENCIAS

- Al-Karaki G., McMichael B., Zak, J. 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza* 14, 263-269
- Al-Karaki G., Clark R. 1998. Growth, mineral acquisition, and water use by mycorrhizal wheat grown under water stress. *Journal of Plant Nutrition* 21(2), 263-276
- Allen M. 2006. Water dynamics of mycorrhizas in arid soils. En: Gadd G. (ed.) *Fungi in biogeochemical cycles*. Pp. 74-97. Cambridge University Press, New York
- Allen M. 2007. Mycorrhizal fungi: Highways for water and nutrients in arid soils. *Vadose Zone Journal* 6, 291-297
- Alvarez-Añorve M., Quesada M., Sánchez-Azofeifa G., Avila-Cabadilla L., Gamon J. 2012. Functional regeneration and spectral reflectance of trees during succession in a highly diverse tropical dry forest ecosystem. *American journal of botany* 99(5), 816-826
- Anaya C., García-Oliva F., Jaramillo V. 2007. Rainfall and labile carbon availability control litter nitrogen dynamics in a tropical dry forest. *Oecologia* 150(4), 602-610
- Anaya C., Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., García-Oliva F. 2012. Large rainfall pulses control litter decomposition in a tropical dry forest: evidence from an 8-year study. *Ecosystems* 15(4), 652-663
- Anderson D. 2008. Model based inference in the life sciences : A primer on evidence. Springer. USA. Pp. 184
- Augé M., Stodola A., Tims J., Saxton A. 2001. Moisture retention properties of a mycorrhizal soil. *Plant and soil* 230, 87-97
- Bago B., Azcón-Aguilar C., Goulet A., Piché Y. 1998. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 139(2), 375-388
- Bago B., Cano C., Azcón-Aguilar C., Samson J., Coughlan A., Piché, Y. 2004. Differential morphogenesis of the extraradical mycelium of an arbuscular mycorrhizal fungus grown monoxenically on spatially heterogeneous culture media. *Mycologia* 96(3), 452-462
- Bartón K. 2013. Model selection and model averaging based on information criteria (AICc and alike). *The Comprehensive R Archive Network*, 1, 13.
- Bates D., Maechler M., Bolker B., Walker S. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67(1), 1-48. [doi:10.18637/jss.v067.i01](https://doi.org/10.18637/jss.v067.i01)
- Boddington C., Bassett E., Jakobsen I., Dodd J. 1999. Comparison of techniques for the extraction and quantification of extra-radical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 31, 479-482
- Burgos A., Maass J. 2004. Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agriculture Ecosystems and Environment* 104, 475-481. DOI:10.1016/j.agee.2004.01.038
- Buzzard V., Hulshof C., Birt T., Violle C., Enquist B. 2016. Re-growing a tropical dry forest: functional plant trait composition and community assembly during succession. *Functional Ecology* 30(6), 1006-1013

- Campo J., Jaramillo V., Maass J. 1998. Pulses of soil phosphorus availability in a Mexican tropical dry forest: effects of seasonality and level of wetting. *Oecologia* 115(1), 167-172.
- Cao S., Sánchez-Azofeifa A. 2017. Modeling seasonal surface temperature variations in secondary tropical dry forests. *International Journal of Applied Earth Observation and Geoinformation* 62, 122–134. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jag.2017.06.008>
- Caravaca F., Díaz E., Barea J., Azcón C., Roldán A. 2003. Photosynthetic and transpiration rates of *Olea europea* subsp. *Sylvestris* and *Rhamnus lycioides* as affected by water deficit and mycorrhiza. *Biologia Plantarum* 46(4), 637-639
- Carrillo-Saucedo S., Gavito M., Siddique I. 2018. Arbuscular mycorrhizal fungal spore communities of a tropical dry forest ecosystem show resilience to land-use change. *Fungal Ecology* 32, 29-39
- Castillo A., Magaña A., Pujadas A., Martínez L., Godínez C., 2005. Understanding the Interaction of Rural People with Ecosystems: A Case Study in a Tropical Dry Forest of Mexico. *Ecosystems* 8, 630-643. doi: 10.1007/s10021-005-0127-1
- Chagnon P., Bradley R., Klironomos J. 2015. Trait-based partner selection drives mycorrhizal network assembly. *Oikos* 124(12), 1609-1616
- Chazdon R. 2014. *Second growth: the promise of tropical forest regeneration in an age of deforestation*. University of Chicago Press
- Chazdon R., Letcher S., Van Breugel M., Martínez-Ramos M., Bongers F., Finegan B. 2007. Rates of change in tree communities of secondary Neotropical forests following major disturbances. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 362(1478), 273-289
- Cornelissen J., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D., Reich P., ter Steege H., Morgan H., van der Heijden M., Pausas J., Porter H. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian journal of Botany* 51(4), 335-380
- de Souza F., Declerck S. 2003. Mycelium development and architecture, and spore production of *Scutellospora reticulata* in monoxenic culture with Ri T-DNA transformed carrot roots. *Mycologia* 95(6), 1004-1012
- Dodd J., Boddington C., Rodriguez A., Gonzalez-Chavez C., Mansur I. 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and soil* 226, 131-151
- Egerton-Warburton L., Querejeta I., Allen M. 2007. Common mycorrhizal networks provide a potential pathway for the transfer of hydraulically lifted water between plants. *Journal of Experimental Botany* 58(6), 1473-1483
- Eissenstat D., Kucharski J., Zadworny M., Adams T., Koide R. 2015. Linking root traits to nutrient foraging in arbuscular mycorrhizal trees in a temperate forest. *New Phytologist* 208(1), 114-124
- Fernandez C., Koide R. 2013. The function of melanin in the ectomycorrhizal fungus *Cenococcum geophilum* under water stress. *Fungal Ecology* 6(6), 479-486.
- Friese C., Allen M. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculums types and external hyphal architecture. *Mycologia* 83, 409-418

- Gavito M., Sandoval-Pérez A., del Castillo K., Cohen-Salgado D., Colarte-Avilés M., Mora F., Santibañez-Rentería A., Siddique I., Urquijo-Ramos C. 2018. Resilience of soil nutrient availability and organic matter decomposition to hurricane impact in a tropical dry forest ecosystem. *Forest Ecology and Management* 426, 81 – 90.
- Giovannetti M., Sbrana C., Logi C. 2000. Microchambers and video-enhanced light microscopy for monitoring cellular events in living hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and soil* 226(2), 153
- Gómez-Aparicio L., Ávila J., Cayuela L. 2013. Métodos de máxima verosimilitud en ecología y su aplicación en modelos de vecindad. *Ecosistemas* 22(3), 12-20.
- Gross N., Robson T., Lavorel S., Albert C., Bagousse-Pinguet L., Guillemin R. 2008. Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *New Phytologist* 180(3), 652-662
- Hallet P., Feeney D., Glyn-Bengough A., Rillig M., Scrimgeour C., Young I. 2009. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and soil* 314, 183-196
- Hodgson D., McDonald J., Hosken D. 2015. What do you mean, 'resilient'? *Trends in Ecology & Evolution* 30, 503-506.
- Holdridge L. 1978. Ecology based on life zones. *Instituto Interamericano de Ciencias Americanas*. San José, Costa Rica
- Jakobsen I. 1998. Extraction and quantification of soil hyphae. Working well for soils with up to 20% clay content. Uppsala, Suecia.
- Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., Sanford Jr. R. 2011. Primary productivity and biogeochemistry of seasonally dry tropical forests. En: *Seasonally dry tropical forests* (pp. 109-128). Island Press/Center for Resource Economics.
- Jaramillo V., Kauffman J., Rentería-Rodríguez L., Cummings D., Ellingson L. 2003. Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes. *Ecosystems* 6(7), 609-629
- Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., Maass M., Nava-Mendoza M., Castañeda-Gómez L., Ahedo-Hernández R., Araiza S., Verduzco A. 2018. Hurricane impact on biogeochemical processes in a tropical dry forest in western Mexico. *Forest Ecology and Management* 426, 72 – 80.
- Koide R., Fernandez C., Malcolm G. 2013. Determining place and process: functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytologist* 201(2), 433-439 doi: 10.1111/nph.12538
- Laliberté E. 2017. Below-ground frontiers in trait-based plant ecology. *New Phytologist* 213(4), 1597-1603
- Lavorel S., Garnier E. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits : revisiting the Holy Grail. *Functional Ecology* 16, 545-556.
- Lavorel S., Díaz S., Cornelissen J., Garnier E., Harrison S., McIntyre S., Pausas J., Perez-Harguindeguy N., Roumet C., Urcelay C. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the Holy Grail? En: Canadell J., Pataki D., Pitelka L. (Eds). *Terrestrial ecosystems in a changing world* (pp. 149-164). The IGBP Series, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.

- Lebrija-Trejos E., Pérez-García E., Meave J., Bongers F., Poorter L. 2010. Functional traits and environmental filtering drive community assembly in a species-rich tropical system. *Ecology* 91(2), 386-398
- Lehmann A., Zheng W., Rillig M. 2017. Soil biota contributions to soil aggregation. *Nature ecology & evolution* 1(12), 1828-1835
- Leyva R. 2013. Adaptaciones morfofisiológicas del micelio extraradical de *Rhizophagus intraradices* a condiciones contrastantes de humedad del suelo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis de Licenciatura.
- Lohbeck M., Poorter L., Lebrija-Trejos E., Martínez-Ramos M., Meave J., Paz H., Pérez-García E., Romero-Pérez E., Tauro A., Bongers F. 2013. Successional changes in functional composition contrast for dry and wet tropical forest. *Ecology* 94(6), 1211-1216
- Maass M., Burgos A. 2011. Water dynamics at the ecosystem level in seasonally dry tropical forests. En: Dirzo R., Young H., Mooney H., Ceballos G. (Eds). *Seasonally dry tropical forests Ecology and Conservation*. Pp. 141-156. Island Press/Center for Resource Economics. United States of America.
- Maass M., Ahedo-Hernández R., Araiza S., Verduzco A., Martínez-Yrizar A., Jaramillo V., Parker G., Pascual F., García-Méndez G., Sarukhán J. 2018. Long-term (33 years) rainfall and runoff dynamics in a tropical dry forest ecosystem in western Mexico: Management implications under extreme hydrometeorological events. *Forest Ecology and Management* 426, 7 – 17.
- Maherali H., Klironomos J. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316(5832), 1746-1748
- Maherali H., Klironomos J. 2012. Phylogenetic and trait-based assembly of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *PLoS One* 7(5), e36695
- Martínez-Yrizar A. 1995. Biomass distribution and primary productivity of tropical dry forests. En: Bullock S., Mooney H., Medina E. (Eds). *Seasonally dry tropical forests* Pp. 326-345. Cambridge: Cambridge University Press. London, England doi:10.1017/CBO9780511753398.013
- Martínez-Yrizar A., Jaramillo V., Maass M., Búrquez A., Parker G., Álvarez-Yépiz J., Araiza S., Verduzco A., Sarukhán J. 2018. Resilience of tropical dry forest productivity to two hurricanes of different intensity in western Mexico. *Forest Ecology and Management* 426, 53 – 60.
- Marulanda A., Azcon R., Ruiz-Lozano J. 2003. Contribution of six arbuscular mycorrhizal fungal isolates to water uptake by *Lactuca sativa* plants under drought stress. *Physiologia Plantarum* 119(4), 526-533
- Maza-Villalobos S., Balvanera P., Martínez-Ramos M. 2011b. Early regeneration of tropical dry forest from abandoned pastures: contrasting chronosequence and dynamic approaches. *Biotropica* 46(6), 666-675.
- Maza-Villalobos S., Lemus-Herrera C., Martínez-Ramos M. 2011a. Successional trends in soil seed banks of abandoned pastures of a Neotropical dry region. *Journal of Tropical Ecology* 27, 35-49.
- McGill B., Enquist B., Weiher E., Westoby M. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in ecology & evolution* 21(4), 178-185.
- Méndez-Alonzo R., Paz H., Zuluaga R., Rosell J., Olson M. 2012. Coordinated evolution of leaf and stem economics in tropical dry forest trees. *Ecology* 93(11), 2397-2406.

- Miller R., Jastrow J. 1990. Hierarchy of root and mycorrhizal fungal interactions with soil aggregation. *Soil Biology and Biochemistry* 22(5), 579 – 584.
- Mora F., Martínez-Ramos M., Ibarra-Manríquez G., Pérez-Jiménez A., Trilleras J., Balvanera P. 2014. Testing chronosequences through dynamic approaches: Time and site effects on tropical dry forest succession. *Biotrópica* doi:10.1111/btp.12187
- Munkvold L., Kjølter R., Vestberg M., Rosendahl S., Jakobsen I. (2004). High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 164(2), 357-364
- Muscarella R., Uriarte M. 2016. Do community-weighted mean functional traits reflect optimal strategies? In: *Proceedings of the Royal Society B* 283(1827), 2015-2434
- Nicolson T. 1959. Mycorrhiza in the Gramineae: I. Vesicular-arbuscular endophytes, with special reference to the external phase. *Transactions of the British Mycological Society* 42(4), 421-423.
- Ocampo M. 2012. Dinámica de la comunidad herbácea del sotobosque de bosques tropicales secos secundarios de Jalisco. (Dynamics of the understory herbaceous community of secondary dry tropical forests of Jalisco). B. Sc. Thesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
- Parker G., Martínez-Yrizar A., Álvarez-Yépiz J., Maass M., Araiza S. 2018. Effects of hurricane disturbance on a tropical dry forest canopy in western Mexico. *Forest Ecology and Management* 426, 39-52
- Pineda-García F., Paz H., Tinoco-Ojanguren C. 2011. Morphological and physiological differentiation of seedlings between dry and wet habitats in a tropical dry forest. *Plant, cell & environment* 34(9), 1536-1547.
- Pineda-García F., Paz H., Meinzer F. 2013. Drought resistance in early and late secondary successional species from a tropical dry forest: the interplay between xylem resistance to embolism, sapwood water storage and leaf shedding. *Plant, Cell & Environment* 36(2), 405-418.
- Pineda-García F., Paz H., Meinzer F., Angeles G. 2015. Exploiting water versus tolerating drought: water-use strategies of trees in a secondary successional tropical dry forest. *Tree physiology* 36(2), 208-217
- Powell J., Parrent J., Hart M., Klironomos J., Rillig M., Maherali H. 2009. Phylogenetic trait conservatism and the evolution of functional trade-offs in arbuscular mycorrhizal fungi. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 276(1676), 4237-4245
- Querejeta J., Egerton-Warburton L., Allen M. 2003. Direct nocturnal water transfer from oaks to their mycorrhizal symbionts during severe soil drying. *Oecologia* 134, 55-64
- Querejeta J., Egerton-Warburton L., Allen M. 2007. Hydraulic lift may buffer rhizosphere hyphae against the negative effects of severe soil drying in a California Oak savanna. *Soil Biology & Biochemistry* 39, 409 – 417.
- Romero-Duque L. Jaramillo V., Pérez-Jiménez A. 2007. Structure and diversity of secondary tropical dry forests in Mexico, differing in their prior land-use history. *Forest Ecology and Management* 253, 38-47
- Ruth B., Khalvati M., Schmidhalter U. 2011. Quantification of mycorrhizal water uptake via high-resolution on line water content sensors. *Plant Soil* 342, 459 – 468.

- Saito M., Stribley P., Hepper C. 1993. Succinate dehydrogenase activity of external and internal hyphae of a vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.) Gerdmann and Trappe, during mycorrhizal colonization of roots of leek (*Allium porrum* L.), as revealed by in situ histochemical staining. *Mycorrhiza* 4(2), 59-62
- Sheaffer G., Peterson R. 1993. Modifications to clearing methods used in combination with vital staining of roots colonized with vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 4, 29-35
- Smith F., Smith S., 1997. Tansley review no. 96. Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizas symbioses. *New Phytologist* 137(3), 373-388
- Team R. C. 2017. R: A language and environment for statistical computing [Internet]. Vienna, Austria 2014.
- Trilleras J., Jaramillo V., Vega E., Balvanera P. 2015. Effects of livestock management on the supply of ecosystem services in pastures in a tropical dry región of western Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 211, 133-144.
- Violle C., Navas M., Vile D., Kazakou E., Fortunel C., Hummel I., Garnier E. (2007). Let the concept of trait be functional! *Oikos* 116(5), 882-892.
- Weemstra M., Mommer L., Visser E., Ruijven J., Kuyper T., Mohren G., Sterck F. 2016. Towards a multidimensional root trait framework: a tree root review. *New Phytologist*, 211(4), 1159-1169
- Williams M., Rice C. 2007. Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community. *Applied Soil Ecology* 35, 535-545
- Wilson G., Rice C., Rillig M., Springer A., Hartnett D. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology Letters* 12, 452 – 461.
- Winrhizo, 2008. Image analysis for plant science. Canadian Company. Software. Regent Instruments Inc.
- Wrzosek M., Ruskiewicz-Michalska M., Sikora K., Damszel M., Sierota Z. 2017. The plasticity of fungal interactions. *Mycological Progress* 16(2), 101-108

MATERIAL SUPLEMENTARIO

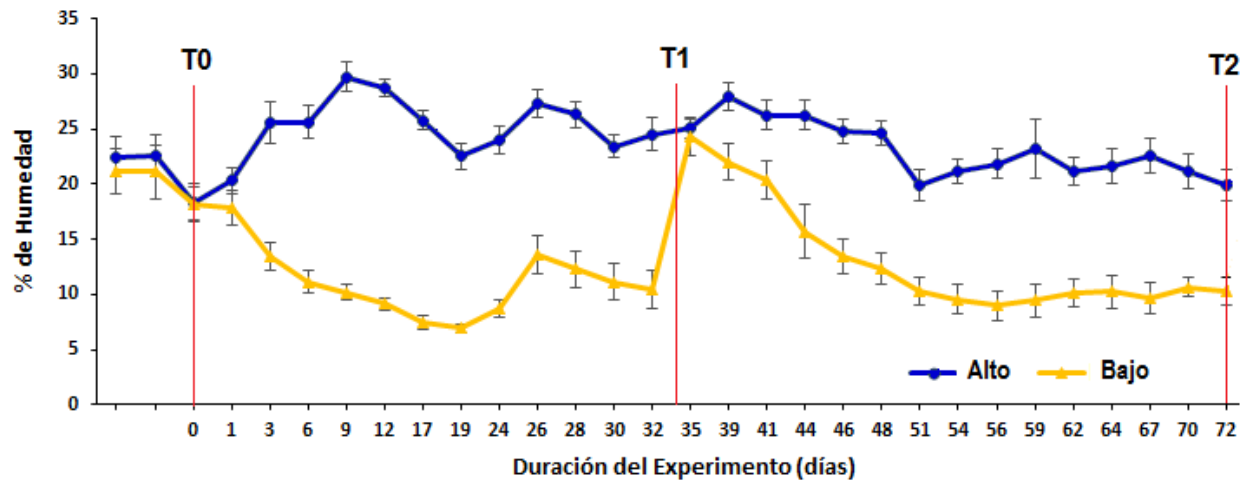


Figura MS1 Porcentaje de humedad ± 1 error estándar del compartimento del micelio durante el experimento. T0, T1 y T2 fueron los días en los que se tomó la muestra. T1=34 días y T2=72 días. Al día 26 se presentó un pico de humedad que se adjudica al cambio de condiciones de la cámara de crecimiento y al movimiento de las macetas al invernadero.

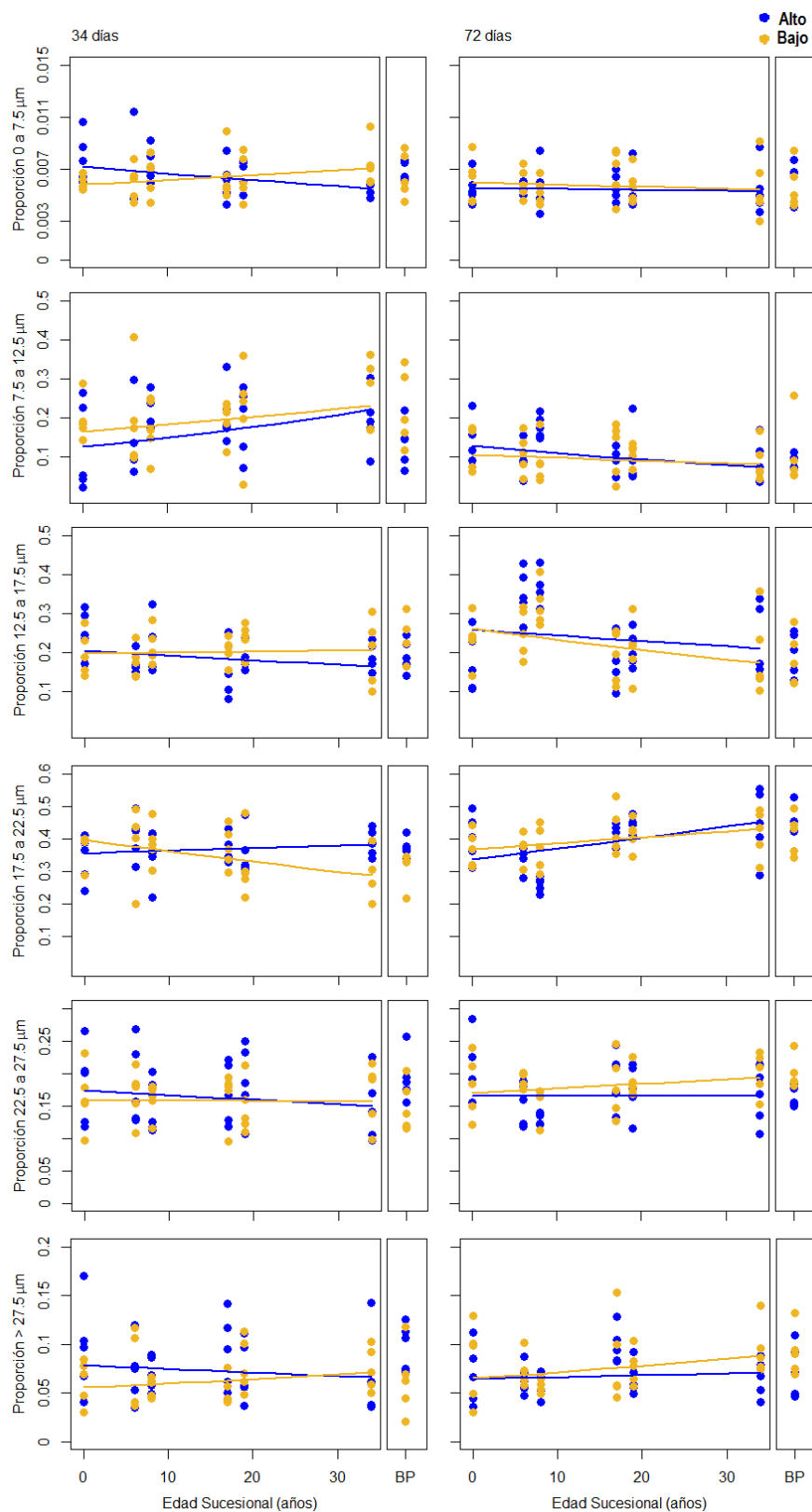


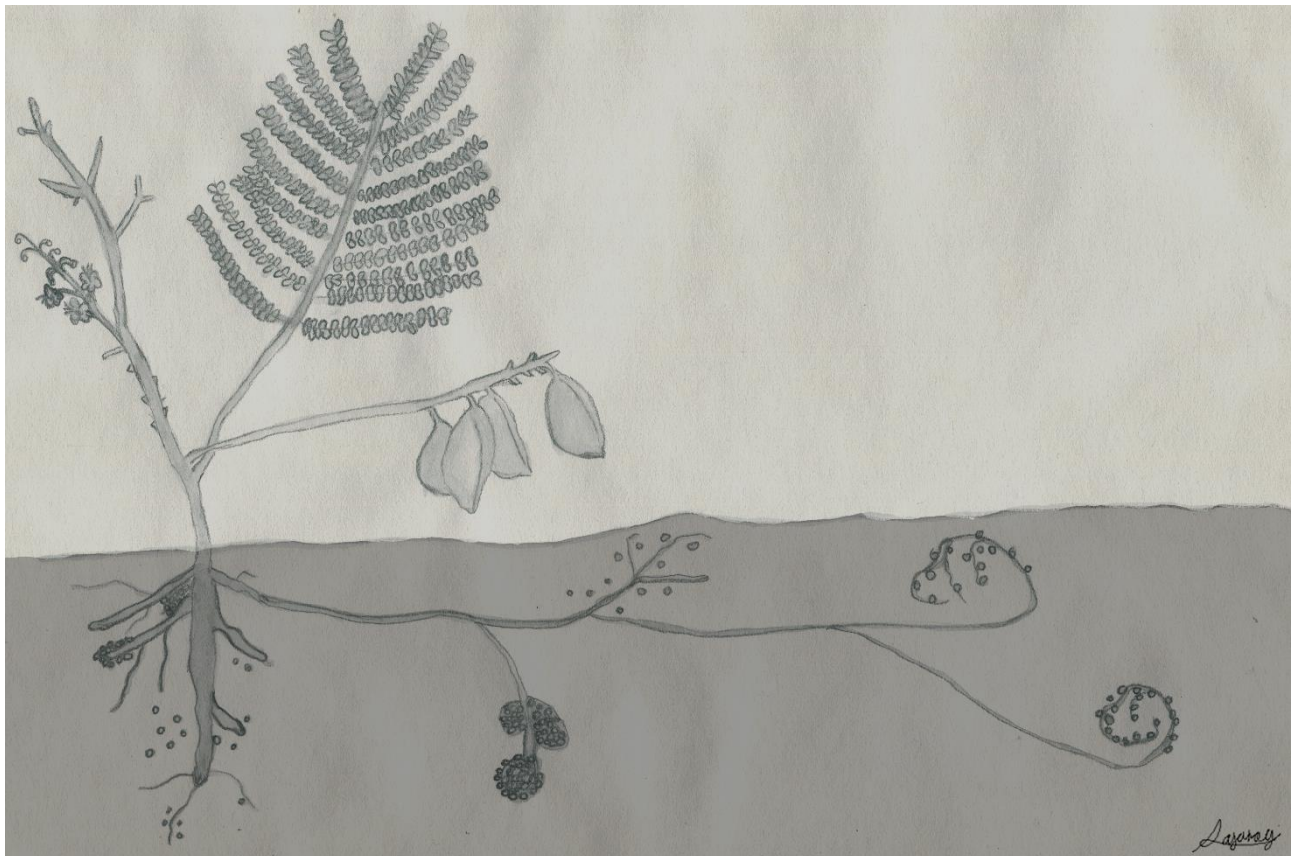
Figura MS2 Proporción por categoría diamétrica en función de la edad sucesional para el T1 (34 días) y el T2 (72 días). La caja representa los valores de referencia del bosque maduro (BP) que no se consideraron en los análisis estadísticos, N=210.

CAPÍTULO III.

ATRIBUTOS FUNCIONALES DE EFECTO DE LAS COMUNIDADES DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES EN UN ECOSISTEMA DE BOSQUE TROPICAL SECO

“Mientras contemplaba así el bosque me gustaba imaginar todos los pequeños y grandes episodios que se estarían desarrollando en él en esos momentos”.

Bruno Traven
(En: El Visitante Nocturno)



RESUMEN

El cambio de uso de suelo y el manejo agropecuario continuo pueden provocar el deterioro de propiedades del suelo como la agregación y la actividad enzimática. Durante la sucesión algunas de estas propiedades se pueden recuperar, pero se desconoce el papel que juegan los atributos de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en dicha recuperación. En este capítulo se investigó si había cambios en la contribución de las comunidades de HMA de la regeneración del BTS en dos funciones, la estructuración y el ciclaje de nutrientes del suelo, a través de dos propiedades, la formación de agregados y la capacidad enzimática potencial. Se esperaba que la contribución de los HMA en ambas propiedades se hubiese reducido por la perturbación constante del uso ganadero y que se recuperaría con el tiempo sucesional. Se realizó un experimento en macetas divididas para separar los efectos de la rizósfera y la hifósfera. Se midieron tres categorías de agregados estables durante tres años y además las actividades enzimáticas potenciales de la fosfatasa, proteasa y β -glucosidasa en el último año. En el compartimento con solo micelio de los HMA se formaron más agregados de 0.25-1 mm y > 1 mm que en el compartimento con raíces y micelio. La edad sucesional de procedencia de las comunidades influyó en la capacidad de agregación de la fracción mayor (> 1 mm) y en la actividad de la fosfatasa. Los efectos de la rizósfera y la hifósfera fueron significativos en las dos funciones evaluadas pero los de la edad sucesional de las comunidades de HMA fueron variables y similares a los valores de referencia del bosque maduro, por lo que se concluye que las funciones de la fosfatasa y los agregados de mayor tamaño se recuperan con la sucesión.

INTRODUCCIÓN

El cambio de uso de suelo es una de las principales amenazas para la conservación de los bosques tropicales secos (BTS) (Miles et al., 2006) y trae como consecuencias cambios en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Lal, 1997; Miller & Kaufmann, 1998; Rillig & Mummey, 2006; Lebrija-Trejos et al., 2011). Estudios recientes muestran que algunas propiedades del suelo son resilientes al manejo como potreros ganaderos, p. ej., la densidad aparente o la actividad biológica (Ayala-Orozco et al., 2017). No obstante, falta entender el papel funcional que juegan los microorganismos durante el cambio de uso de suelo (Teste & Dickie, 2017) o en la resiliencia de los ecosistemas a través de la evaluación de sus funciones.

La agregación es un proceso complejo clave para el funcionamiento del ecosistema (O'Neill et al., 1991) pues integra propiedades edáficas físicas, químicas y biológicas (Bronick & Lal 2005; Martínez-Trinidad et al., 2012). Los agregados son grupos de partículas secundarias que se forman a partir de la combinación entre partículas minerales y residuos orgánicos que interactúan físicamente con las raíces y la microbiota (Bronick & Lal, 2005; Rillig & Mummey, 2006). Por su tamaño, se clasifican en dos fracciones principales: los microagregados, formados por partículas primarias menores a 0.250 mm y los macroagregados, que miden más de 0.250 mm y unen a los microagregados por la acción física y química de las raíces finas, las hifas y los microbios del suelo (Bronick & Lal, 2005). Los agregados cumplen funciones valiosas en el ecosistema ya que mantienen la porosidad, previenen la erosión, almacenan nutrientes, retienen el agua y son considerados indicadores de calidad del suelo (Dighton, 2003; Rillig, 2004; Dominatti et al., 2010).

Las plantas y los microorganismos exhiben una alta capacidad para agregar el suelo (Chotte, 2005) y esto se debe a que presentan diferentes atributos funcionales que promueven la agregación (Bardgett et al., 2014; Rillig et al., 2015; Lehman et al., 2017). Cuando estos atributos revelan cómo influyen los organismos en una función del ecosistema se les conoce como atributos de efecto (Gross et al., 2008; Suding et al., 2008). Por ejemplo, la capacidad cementante de los exudados de raíces y del micelio son atributos de efecto que promueven la agregación (Caesar-TonThat & Cochran, 2000).

Además de la agregación, la liberación de exudados radiculares ricos en polisacáridos que son aprovechados eficientemente por hongos y bacterias del suelo también favorece la actividad enzimática potencial del suelo. Los hongos y las bacterias del suelo aprovechan eficientemente la liberación de exudados radicales ricos en polisacáridos y liberan a su vez enzimas extracelulares (exoenzimas) (Dick, 2011; Kalender, 2015; Plante et al., 2015) que favorecen la actividad enzimática potencial del suelo (Waldrop et al., 2000; Arriagada et al., 2012). Esta dinámica continua de formación, estabilización y desintegración de agregados (Rillig et al., 2017) promueve que los polisacáridos que producen los microorganismos y residuos vegetales queden atrapados dentro de los agregados (Chotte, 2005) convirtiéndose así en pequeños almacenes de carbono en el suelo (Alberton et al., 2005; Wilson et al., 2009).

Los HMA favorecen el proceso de agregación del suelo a través de los efectos físicos, biológicos y bioquímicos que promueve el crecimiento del micelio extraradical (ME) (Rillig & Mummey, 2006). Por ejemplo, el micelio enreda y alinea físicamente las partículas primarias de suelo (Tisdal & Oades, 1980), secreta exudados ricos en exoenzimas, carbono orgánico y proteínas cementantes, como la glomalina que reaccionan bioquímicamente con

los compuestos orgánicos y unen las partículas (Write & Upadaya 1998; Rillig et al., 2002) e, interacciona biológicamente con las raíces y las comunidades bacterianas que en conjunto promueven la agregación y el ciclaje de nutrientes formando una red que le da estabilidad al suelo (Jastrow et al., 1998; Rillig et al., 2002; 2004; 2005). La agricultura, la ganadería y el cambio de uso de suelo afectan negativamente la agregación (Camenzind & Rillig, 2013) y, por lo tanto, también las funciones ecológicas asociadas a la dinámica de la agregación, p. ej., la actividad enzimática (Waldrop et al., 2000; Arriagada et al., 2012).

En la región de Chamela, Jalisco, el cambio de uso de suelo de bosque tropical seco (BTS) a uso agropecuario ha traído como consecuencia un aumento en la densidad aparente del suelo y una disminución en la porosidad de los macroagregados, en el carbono orgánico, en el pH y en las bases intercambiables (García Oliva et al., 1999; Cotler & Ortega-Larrocea, 2006; Martínez-Trinidad et al., 2008). Por otra parte, algunos estudios indican que cuando las parcelas en uso ganadero se abandonan por falta de productividad (Burgos & Maass 2004), los nutrientes totales del suelo como el C y el P tienden a recuperarse lentamente durante la sucesión porque el suelo se ha deteriorado física, química y biológicamente (García-Oliva et al., 2006; Sandoval-Pérez et al., 2009). Los suelos de la región son jóvenes con predominancia de Regosoles y Cambisoles con altos porcentajes de arena (Cotler et al., 2002). En ellos, la presencia de agregados es particularmente relevante para la retención de agua y nutrientes (Cotler & Ortega-Larrocea, 2006). Sin embargo, los suelos sometidos al cambio de uso de suelo sufren el impacto de la compactación por el pisoteo del ganado con efectos negativos en la estructura y en la calidad del suelo (Chávez-Macedo, 2014) y en la cobertura vegetal que deja zonas sin protección y sin la acción biológica de las raíces (Murguía-Flores, 2012). En este contexto, el papel de los HMA se vuelve relevante, ya que los estudios experimentales y en campo

han encontrado que el ME puede extenderse (de 1 a 2 órdenes de magnitud) mas allá de la zona de influencia de las raíces (Friese & Allen, 1991; Leake et al., 2004). Por lo que se hace necesario entender cuál es la contribución de las comunidades de HMA y de microorganismos asociados (hifósfera) con respecto a la planta y su microbiota circundante (rizósfera); y analizar si comunidades microbianas (HMA y microbios) que provienen de diferentes etapas sucesionales muestran atributos funcionales diferentes en cuanto a la capacidad de agregación o en la actividad enzimática potencial (**Cuadro 1**). En el presente trabajo se hipotetizó que la rizósfera, al ser la fuente principal de alimentos (exudados de raíces) para los microorganismos del suelo, favorecería en mayor medida la formación de agregados y de actividad enzimática del suelo que la hifósfera y que conforme avanzara la edad sucesional del inóculo existiría una mayor promoción de funciones como la formación de agregados y la actividad enzimática potencial, pues suponemos que habrá una mayor abundancia de microorganismos y recuperación de funciones.

Cuadro 1. Lista de atributos de efecto medidos en este capítulo. Cuadro elaborado a partir de: Tisdal & Oades, 1982; Olsson et al., 1999; Chapin et al., 2002; García et al., 2007; Kalender et al., 2015; Plante et al., 2015.

Atributos medidos	Significado	Contribución de:
Fracciones de agregados: <i>Da información sobre procesos de estructuración del suelo</i>		
1. Fracción ≤ 0.25 mm	Unión de partículas por fuerzas químicas y agentes cementantes	Características físicas del suelo y de la materia orgánica presente
2. Fracción de 0.25 a 1.0 mm	Unión de meso y microagregados por la acción física y química de la biota	Principalmente hongos (micorrízicos, saprótrofos) y microbiota asociada
3. Fracción ≥ 1.0 mm		
Actividad Enzimática Potencial: <i>Mide la capacidad potencial del suelo para la descomposición de moléculas</i>		
Fosfatasa	Mide la disponibilidad de P en el ambiente	Bacterias heterotróficas, hongos y HMA
β - glucosidasa	Indicador de la degradación de carbohidratos	Bacterias
Proteasa-Caseína	Evalúa de la descomposición progresiva del N	Procariotas principalmente
Biomasa microbiana: <i>Informa sobre la composición y abundancia de microorganismos en la comunidad.</i>		
Marcador Neutro (NLFA 16:1 ω 5)	Proporciona información sobre la abundancia de HMA	Específico para HMA
Cociente PLFA:NLFA (Marcador 16:1 ω 5)	Evalúa la disyuntiva funcional entre el C almacenado en reservas (NLFA) y el de crecimiento (PLFA)	Específico para HMA

El objetivo general de este trabajo fue evaluar la capacidad de agregación del suelo y la capacidad enzimática potencial en la rizósfera e hifósfera, en suelo proveniente de diferentes edades sucesionales del bosque tropical seco y relacionar estas capacidades con la abundancia de diferentes grupos microbianos, en particular con la de los HMA.

Se plantearon los siguientes objetivos particulares:

1. Determinar y comparar el efecto de la rizósfera e hifósfera en la agregación y en las actividades enzimáticas potenciales en suelo proveniente de diferentes edades sucesionales.
2. Analizar la relación que existe entre las comunidades microbianas provenientes del suelo de sitios con diferentes edades sucesionales y la función que desempeñan en la formación de agregados y en la actividad enzimática potencial del suelo.
3. Evaluar la contribución de las comunidades de HMA en la agregación y actividad enzimática potencial en suelo de diferentes edades sucesionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se diseñó un experimento factorial con dos factores: 1) comunidades de HMA, que fueron las 10 de los sitios de estudio caracterizados en el capítulo uno, más un testigo sin comunidad de HMA y 2) compartimento, con dos niveles: rizósfera e hifósfera.

El experimento se llevó a cabo en un invernadero de malla-sombra en la Estación de Biología Chamela (Jalisco), UNAM ubicada en la costa del Pacífico de México. Se utilizaron macetas de 25 kg, divididas a la mitad por una doble malla de 35 μm para restringir el paso de las raíces pero no del micelio de los HMA (**Figura 1**). La división permitió separar el

efecto de las raíces (rizósfera) del efecto del micelio (hifósfera) en la agregación del suelo. Las macetas se llenaron con una mezcla homogénea de 18 kg de suelo (sustrato) y 7 kg de inóculo proveniente de cada uno de los sitios de estudio o el mismo suelo (sustrato) desinfectado en el caso del grupo testigo. Las macetas contaron con drenaje para eliminar el agua excedente.

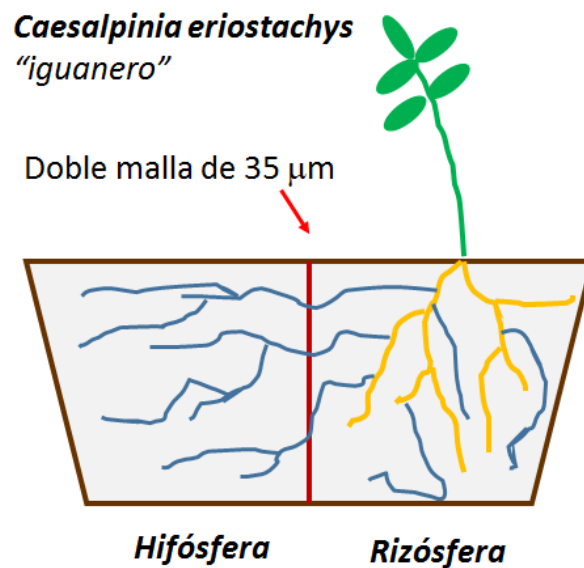


Figura 1. Diseño de la maceta del experimento de agregación.

Sustrato suelo:arena

Se utilizó como sustrato principal un suelo proveniente de una zona cercana a la Estación de Biología Chamela de la Universidad Nacional Autónoma de México, la cual se encuentra en la costa de Jalisco, en el km 59 de la carretera Barra de Navidad – Puerto Vallarta. La vegetación del sitio de colecta de suelo es BTS con perturbación antrópica por estar cerca de la carretera. Se colectó de los primeros 20 cm de profundidad después de retirar el mantillo y las piedras de la superficie. El tipo de suelo es Cambisol háplico con pH de 6.8 a 7.3, con 1.4 – 1.6 % de C total, 0.13 a 0.17% de N total y 691 a 926 μg/g de P total (Murguía-

Flores, 2012). El suelo se secó al aire y se tamizó a través de una malla de 4 mm para eliminar piedras y comenzar el experimento con el mismo tamaño de grano. Después se desinfectó de propágulos de HMA por calor seco durante 8 horas de 100 a 120 °C en una estufa (ProGrow SS-15) seguido de 12 hrs sin calor; este proceso se repitió dos veces. Durante las horas sin calor el suelo fue aireado con una pala para prevenir toxicidad. Las macetas contaron con drenaje para eliminar el agua excedente.

Inóculo micorrízico

El inóculo micorrízico se obtuvo de 10 sitios con diferentes edades de regeneración natural (0, 0, 6, 8, 19, 21, 34 y 34 años) y de dos sitios de bosque maduro (BTS) para incluir varias comunidades provenientes de condiciones ambientales presuntamente distintas, como consecuencia de los cambios en la vegetación y en el suelo de las diferentes etapas sucesionales. El inóculo se colectó de 15 puntos distintos en una parcela de 10 x 15 m de cada sitio en los primeros 20 cm de suelo libre de hojarasca. Con estas 15 muestras de aproximadamente 50 kg se hizo una mezcla compuesta la cual también fue tamizada a 4 mm (**Cuadro 2**).

Planta hospedera

Se utilizó como planta hospedera *Caesalpinia eriostachys* Benth, una leguminosa arbórea perenne presente en todas las coberturas del BTS que presenta buena colonización micorrízica pero no se asocia con bacterias fijadoras de N. Las semillas fueron colectadas dentro de la reserva, se lavaron con agua destilada y desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 10 min, luego se germinaron en arena lavada y esterilizada. Las plántulas se trasplantaron a las macetas a los 30 días de edad, cuando

salieron las primeras hojas. Se pusieron dos plántulas por maceta y una vez que las plántulas se establecieron se extrajo la que se veía con menor vigor.

Cuadro 2. Caracterización del inóculo micorrízico y de los sitios de donde se extrajo.

Edad Sucesional	Cobertura	Ubicación	Método de conversión	Riqueza de Plantas		Riqueza de HMA (Orden)			
				L	H	G	D	A	E
0	Pastizal Activo	19° 35' 43.00" 105° 02' 31.28"	Roza-Tumba-Quema	10 a 15	20 a 32	16	9	-	1
0	Pastizal Activo	19° 33' 58.28" 105° 04' 30.61"				19	9	1	-
6	Regeneración temprana	19° 34' 51.20" 105° 03' 38.20"	Roza-Tumba-Quema	15 a 24	22 a 30	17	12	-	-
8	Regeneración temprana	19° 36' 02.50" 105° 03' 37.30"				15	6	1	-
19	Regeneración intermedia	19° 35' 32.80" 105° 00' 32.70"	Roza-Tumba-Quema	25 a 30	25 a 32	18	9	1	1
21	Regeneración intermedia	19° 35' 55.20" 105° 02' 53.50"				14	7	0	1
34	Regeneración avanzada	19° 38' 47.73" 105° 10' 31.13"	Aclareo con Bulldozer	46	ND	13	8	-	1
34	Regeneración avanzada	19° 37' 29.30" 105° 09' 18.70"				16	12	1	0
NC	Bosque Tropical Seco	19° 30' 3.70" 105° 02' 35.30"	Reserva Natural	23 a 27	22 a 27	15	8	0	1
NC	Bosque Tropical Seco	19° 29' 56.20" 105° 02' 29.80"				14	8	-	-

NC=No conocida, L=Leñosas en 0.1 ha, H= Herbáceas en 1 m². Los datos de vegetación provienen de Trilleras et al., 2015; Mora et al., 2014; Ocampo, 2012; Maza-Villalobos et al., 2011a, b; Romero-Duque et al., 2007. G=Glomerales, D=Diversisporales, A=Archaeosporales, E=Entrophospora (Carrillo-Saucedo et al., 2018).

Condiciones experimentales

Las condiciones ambientales de crecimiento fueron las locales de la Estación de Biología (Figura 2). Durante los primeros cuatro meses, las macetas se regaron regularmente con agua de la llave para asegurar el establecimiento de los HMA y la planta hospedera. El agua era filtrada con una triple malla de 20 µm para evitar contaminación por otros HMA. Concluido el periodo, se dejó a las plantas continuar su crecimiento bajo los periodos

normales de humedad (lluvia – sequía) siguiendo los cambios estacionales de la región hasta el final del experimento. Las plantas que no sobrevivieron a estas condiciones se reemplazaron; en total se reemplazaron siete plántulas de la misma edad las cuales se dejaron crecer en el mismo tipo suelo estéril (**Cuadro 3**). La invasión de hierbas y la proliferación de algas se controló con una capa de piedras de tezontle fino en la superficie del suelo y con un deshierbe manual continuo.

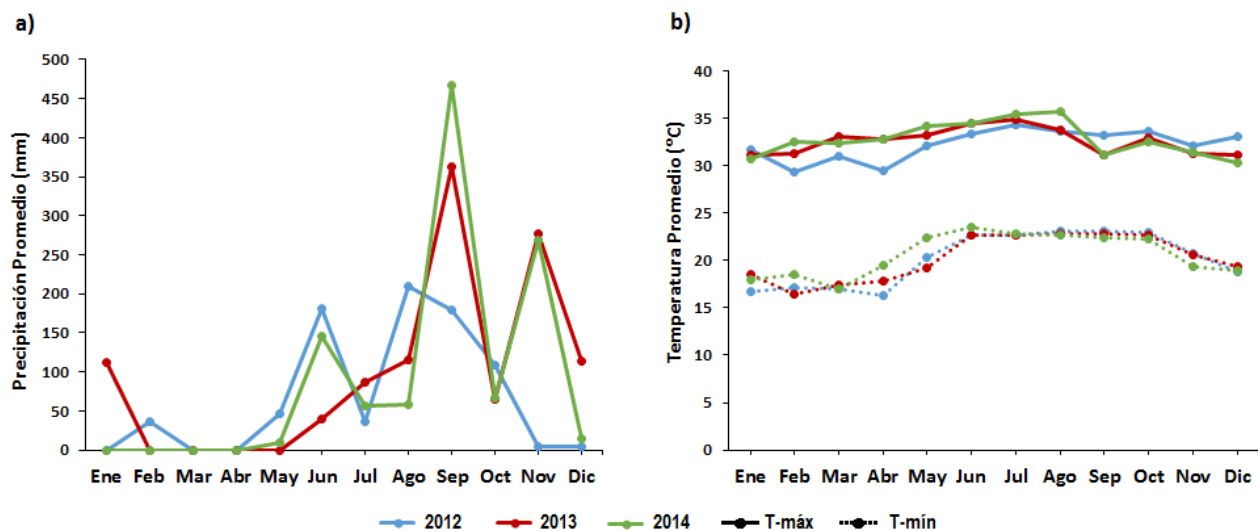


Figura 2 a) Precipitación promedio mensual y b) temperatura máxima (T-máx) y mínima (T-mín) promedio mensual en la Estación de Biología Chamela para los años de 2012 a 2014

Cuadro 3 Cronograma de actividades durante el experimento

Fecha	Actividad	Días
22/Mayo/2012	Inicia experimento y se ponen plántulas de Iguanero	0
22/Agosto/2012	Establecimiento de las plántulas con riego continuo y eliminación de una plántula	92
4/Diciembre/2012	Se reemplazan plántulas muertas (7)	187
25/Febrero/2013	Primer muestreo (T1)	279
18/Enero/2014	Segundo muestreo (T2)	606
1/Febrero/2015	Tercer muestreo (T3)	985

Toma de la muestra

Se tomaron muestras anuales del suelo de las macetas durante tres años consecutivos y al principio del periodo de sequía (T1, T2 y T3), en cada compartimento. Las muestras se tomaron con un nucleador de 2 cm de diámetro hasta una profundidad de 15 cm, el agujero se tapó con suelo estéril y se colocó una marca. La muestra obtenida cada año se utilizó para medir tres categorías de agregados estables en agua sin arena. Las fracciones analizadas fueron dos categorías de *macroagregados*, de 0.25 a 1.0 mm y ≥ 1.0 mm y una categoría de *microagregados y otras partículas* < 0.25 mm. Las muestras se secaron al aire para evitar actividad microbiana y se conservaron a temperatura ambiente. Los agregados se determinaron con el método modificado de Angers et al. (2006), que consistió en tamizado por inmersión repetida en agua usando aperturas de malla en orden descendente, primero de 1 mm y después de 0.25 mm. Los agregados retenidos en cada malla se secaron a peso constante y se disolvieron posteriormente con hidróxido de sodio para volver a tamizar, secar, pesar y restar las partículas no cementantes de arena.

En el último año de muestreo (T3), se tomó además una segunda muestra la cual se dividió en dos partes iguales. La primera submuestra se refrigeró para hacer los análisis enzimáticos y la segunda submuestra se congeló para hacer los análisis de ácidos grasos. De acuerdo con el sistema internacional de clasificación enzimática (Enzyme Commission Numbers), las actividades enzimáticas potenciales del suelo analizadas fueron: fosfatasa ácida (EC #3.1.3.2) con el método de Tabatabai y Bremner (1969), β -glucosidasa (EC #3.2.1.21) con el método de Eivazi y Tabatabai (1988), con las modificaciones de Saá (1995) descrito en Carlos et al. (2007) y proteasa-caseína (EC #3.4.21.92) con el método de Ladd y Buttler (1972) descrito en Carlos et al. (2007) **(Cuadro 4)**. Todas las

determinaciones se hicieron por duplicado con suelo libre de piedras e incluyeron correcciones con blancos de suelo y de reactivos.

Cuadro 4 Características de las actividades enzimáticas analizadas en este trabajo. Con base en: García et al. (2007), Kandeler (2015) y Plante et al. (2015).

Número	Enzima	Tipo	Función	Organismos	Rangos
3.1.3.2	Fosfatasa ácida	Hidrolasa	Cataliza la hidrólisis de ésteres y anhídridos del ácido fosfórico.	El 30% de las bacterias heterotróficas del suelo. También los hongos, incluyendo micorrízicos.	0.05 – 86.3 $\mu\text{M p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$
3.2.1.21	β-Glucosidasa	Hidrolasa	Degrada los carbohidratos del suelo, su producto es un aporte de energía importante para los microbios.	Enzima ubicua entre las bacterias del suelo.	0.09 – 405 $\mu\text{M p-nitrofenol g}^{-1} \text{ h}^{-1}$
3.4.21.9 2	Proteasa-Caseína	Hidrolasa	Descompone progresivamente el N presente en las proteínas a N peptídico y luego a aminoácidos.	Varios procariotas, especialmente <i>Pseudomonas</i> y <i>Flavobacteria</i> .	0.04 – 4.48 $\mu\text{M tirosina g}^{-1} \text{ h}^{-1}$

Se realizó un análisis de biomarcadores de ácidos grasos mediante el método de fraccionamiento de lípidos (Frostegaard & Baath, 1993) para determinar la presencia y abundancia de grupos funcionales de microorganismos del suelo asociados a la agregación y a la producción de exoenzimas, suponiendo que tanto las raíces como el micelio de los HMA cuentan con algunas esas capacidades pero también se asocian con otros microorganismos que las poseen. El método consiste en extraer los ácidos grasos fosfolipídicos de membrana (phospholipid fatty acids, PLFA) y los ácidos grasos neutros de reserva (neutral lipid fatty acids, NLFA). Para estimar la abundancia de hongos micorrízicos arbusculares se utilizó la fracción de NLFA del biomarcador 16:1 ω 5c como estimador de las células vivas (Olsson et al., 1999; Gavito & Olsson, 2003), ya que algunas bacterias pueden contribuir a la fracción PLFA de este biomarcador pero no a la fracción NLFA. Igualmente, se utilizó la fracción NLFA para los biomarcadores de otros hongos (FUNGI,

SAP, **Cuadro 5**) para separar mejor la abundancia de hongos de la de bacterias. También se analizaron otros marcadores sugeridos para bacterias y hongos que se presentan en el cuadro 5.

Cuadro 5 Biomarcadores de ácidos grasos analizados en este trabajo (Ruess & Chamberlain, 2010).

No.	Tipo	Marcador	Organismo	Clave
1	NLFA	16:1 ω 5	Hongos Micorrízicos Arbusculares	HMA
2	NLFA	18:1 ω 9c	Hongos, no incluye HMA	FUNGI
3	NLFA	18:2 ω 6,9	Hongos, no incluye HMA	SAP
4	PLFA	15:0 iso	Bacterias Gram Positivas	GP1
5	PLFA	15:0 anteiso	Bacterias Gram Positivas	GP2
6	PLFA	16:0 iso	Bacterias Gram Positivas	GP3
7	PLFA	17:0 iso	Bacterias Gram Positivas	GP4
8	PLFA	17:0 anteiso	Bacterias Gram Positivas	GP5
9	PLFA	17:0 cyclo	Bacterias Gram Negativas	GN1
10	PLFA	19:0 cyclo ω 8c	Bacterias Gram Negativas	GN2
11	PLFA	18:1 ω 7c 11 methyl	Actinomicetes	ACT1
12	PLFA	18:0 10 methyl	Actinomicetes	ACT2
13	PLFA	16:1 ω 7	Hongo/Bacteria/Oomicete	BAC

Análisis estadístico

Se ajustaron modelos lineales mixtos para probar el efecto de la rizósfera e hifósfera, así como la categoría sucesional sobre la agregación del suelo. Para las categorías de agregados se utilizaron como factores fijos la edad sucesional de procedencia del inóculo micorrízico, el compartimento de las macetas y la fecha de muestreo. Como las mediciones fueron llevadas a cabo en la misma maceta y el inóculo se extrajo del mismo sitio a partir de una muestra compuesta, estos factores se incluyeron como componentes aleatorios del modelo (Ecuación 1).

Ecuación 1

$$\text{Variable de respuesta}_i = \beta_0 + \beta_1 \text{Edad sucesional} + \beta_2 \text{Compartimento} \\ + \beta_3 \text{Fecha de muestreo} + b_{1i}(\text{Sitio}) + b_{2i}(\text{Maceta}) + \text{Error}_i$$

Luego del análisis visual de distribución de los datos, se observó que las variables fracción ≥ 1.0 mm y fosfatasa presentaron un comportamiento cuadrático con respecto a la edad sucesional, por lo que fueron ajustadas a un modelo que incluyó el término cuadrático.

Las actividades enzimáticas se analizaron de la misma manera, pero sin incluir la fecha de muestreo, porque solo hubo una fecha de muestreo. En ambos modelos se ajustaron los valores de R^2 y se obtuvieron los valores de $P \leq 0.05$, para hacer la inferencia estadística.

Para analizar si la formación de cierta fracción de agregados o su actividad enzimática estaba asociada a grupos específicos de microorganismos, particularmente los HMA, se llevó a cabo un análisis de redundancia (RDA). Este análisis permite examinar la correlación entre las variables de respuesta y determina las variables explicativas de mayor peso y puede incluir variables categóricas (Bocard et al., 2011). El modelo fue el siguiente (Ecuación 2).

Ecuación 2

$$\text{Matriz de Respuesta} \sim \text{Composición de la comunidad microbiana} + \text{Compartimento} \\ + \text{Edad Sucesional}$$

La matriz de respuesta estuvo compuesta por los valores de los atributos de efecto (categorías de agregados y actividades enzimáticas potenciales). Estas variables fueron transformadas utilizando la transformación de Hellinger. Para probar la veracidad del modelo se realizó una prueba de permutaciones y se ajustó la R^2 .

Posteriormente, se llevó a cabo un análisis de redundancia parcial (Partial-RDA) que permitió analizar la variación aportada por los factores (tratamiento y edad sucesional) y la composición de especies de manera independiente para las fracciones de agregados y actividad enzimática por separado.

Finalmente, se buscaron relaciones entre marcadores de ácidos grasos y las variables de respuesta analizadas en el tercer año para ver si las relaciones del RDA eran significativas mediante la prueba de correlación de Spearman. Se utilizó este estadístico debido a que no todas las variables se comportaron con normalidad.

Las variables fracción ≥ 1.0 mm, fosfatasa, proteasa y β -glucosidasa fueron transformadas con log y la variable biomasa HMA (NLFA 16:1 ω 5) fue transformada con raíz cuadrada para mejorar la distribución de los residuales. Los análisis se realizaron utilizando el programa R, para el ajuste los modelos lineales mixtos se utilizó la función lmer del paquete lme4 (Bates et al., 2018), para obtener el valor de R^2_{adj} se utilizó la función r.squaredLR del paquete MuMIn (Barton et al., 2018), para las correlaciones de Spearman se utilizó la función chart.Correlation del paquete Hmisc (Harrell Jr., 2018) y para el RDA se utilizó la función rda del paquete vegan (Oksanen et al., 2018).

RESULTADOS

Dinámica de las fracciones de agregados

En general, no se encontraron evidencias de un efecto del compartimento o de la edad sucesional de procedencia del inóculo sobre la agregación del suelo, sino hasta el tercer año de estudio (**Figura MS1**). La fracción ≤ 0.25 mm disminuyó significativamente ($p=0.025$), mientras que la fracción ≥ 1.00 mm aumentó ($p=0.0001$) y además mostró interacción con el compartimento ($p=0.0006$). La fracción 0.25 a 1.00 mm presentó una interacción significativa edad sucesional x compartimento ($p=0.0007$), pero no con respecto a la edad, el compartimento o el tiempo (**Figura MS1**).

Agregación y actividad enzimática

Al tercer año de muestreo se encontraron evidencias de cambios en la proporción de agregados y en la actividad enzimática con respecto al compartimento y la edad sucesional (**Cuadro 6**). La hifósfera contribuyó principalmente en la formación de agregados de fracciones más grandes (0.25 a 1.00 mm y ≥ 1.00 mm), mientras que en la rizósfera fue mayor la fracción menor (≤ 0.25 mm) (**Figura 3 a, b, c** y **Cuadro 6**). Solo las fracciones mayores (0.25 a 1.00 mm y ≥ 1.00 mm) presentaron relaciones positivas ($R^2=0.31$ y $R^2=0.40$) y significativas ($p=0.002$ y $p=0.010$) con la edad sucesional. La fracción ≥ 1.00 mm presentó además una relación cuadrática positiva ($R^2=0.51$) y significativa ($p=0.01$) con la edad sucesional. Las interacciones entre factores solo se presentaron en la fracción 0.25-1.00 mm (**Figura 3a, b, c** y **Cuadro 6**). Los valores del inóculo de BTS maduro tuvieron una variación alta y no se diferenciaron de los de las edades sucesionales. Por su parte, los valores del testigo sin comunidad de HMA no se diferenciaron de los de las edades

sucesionales en la fracción menor (≤ 0.25 mm) pero si fueron menores en las fracciones mayores (0.25 a 1.00 mm y ≥ 1.00 mm) (**Figura 3a, b, c**).

La actividad enzimática fue siempre mayor en el compartimento de la rizósfera que en el de la hifósfera para la fosfatasa ($p=0.004$) y la β -glucosidasa ($p=0.006$). La fosfatasa mostró un aumento lineal ($R^2=0.40$ y $R^2=0.66$) y cuadrático positivo y significativo ($p=0.006$ y $p=0.01$) con la edad sucesional del inóculo. No hubo interacciones entre factores. La actividad enzimática de la proteasa no presentó ningún cambio significativo (**Figura 3d, e, f** y **Cuadro 6**). Los valores del inóculo del BTS maduro presentaron una variación alta y no se diferenciaron de los valores de la sucesión, mientras que los valores del testigo sin comunidad de HMA fueron los más bajos para las tres actividades enzimáticas analizadas (**Figura 3d, e, f**).

Cuadro 6 Resumen de los modelos lineales mixtos que fueron significativos ($p \leq 0.05$) para las variables de respuesta medidas en el tercer año de muestreo, n.s. = no significativo.

Variables de respuesta	Tran	Modelos significativos				
		E	C	E ²	E*C	E ² *C
Fracción ≤ 0.25 mm (g/g suelo)	NA	n.s.	0.00001	n.s.	n.s.	n.s.
Fracción 0.25 a 1.0 mm (g/g suelo)	NA	0.002	n.s.	n.s.	0.008	n.s.
Fracción ≥ 1.0 mm (g/g suelo)	Log	0.010	0.00001	0.010	n.s.	n.s.
Fosfatasa (μ moles PNF/g ⁻¹ suelo h ⁻¹)	Log	0.006	0.0041	0.013	n.s.	n.s.
Proteasa (μ moles Tirosina /g ⁻¹ suelo h ⁻¹)	Log	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
β -Glucosidasa (μ moles PNF/g ⁻¹ suelo h ⁻¹)	Log	n.s.	0.0063	n.s.	n.s.	n.s.
Biomasa microbiana total (nanomoles /g suelo)	NA	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Biomasa HMA (NLFA 16:1 ω 5) (nanomoles /g suelo)	Sqrt	n.s.	0.007	n.s.	n.s.	n.s.
Cociente NLFA/PLFA (Marcador 16:1 ω 5)	NA	n.s.	0.004	n.s.	n.s.	n.s.

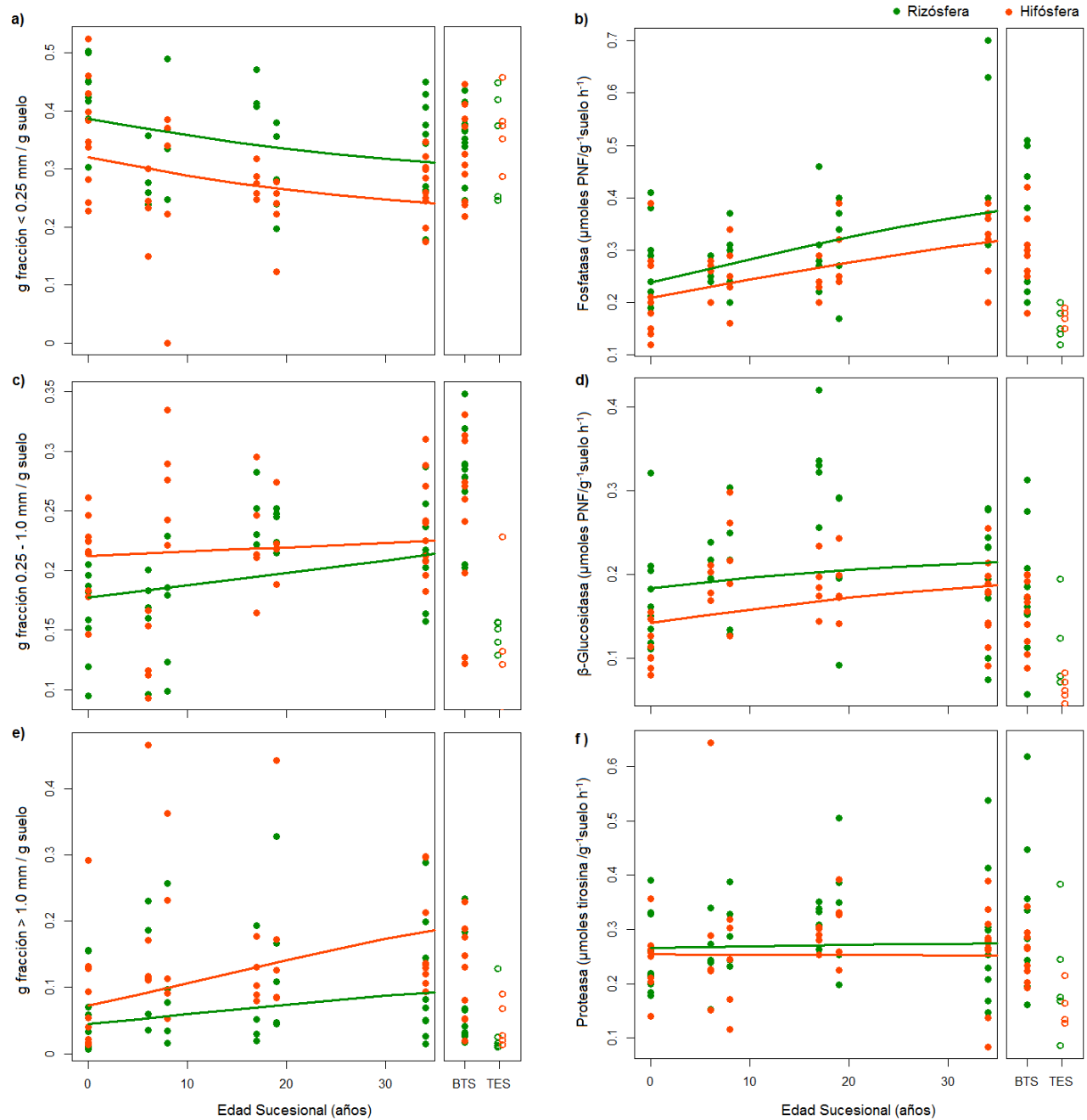


Figura 3. Fracciones de agregados estables en agua: a) ≤ 0.25 mm, b) 0.25 a 1.0 mm y c) 1.0 mm y actividad enzimática potencial d) fosfatasa, e) β -glucosidasa y f) proteasa. La caja a la derecha marca los valores de referencia para el bosque maduro (BTS) y el testigo (TES).

Relación entre la composición de las comunidades microbianas y los atributos de efecto

El análisis de redundancia mostró que la edad sucesional de procedencia del inóculo está asociada positivamente a una mayor abundancia de marcadores microbianos de bacterias Gram-, Gram+ y actinomicetos, así como a la actividad enzimática de la fosfatasa en el compartimento de la rizósfera. La actividad de la β -glucosidasa, estuvo asociada a la rizósfera y la actividad de la proteasa estuvo asociada a la hifósfera (**Figura 4**).

En el caso de los agregados, la fracción ≥ 1.00 mm estuvo asociada positivamente con marcadores microbianos de organismos filamentosos como actinomicetos, hongos micorrízicos arbusculares y hongos saprótrofos, en el compartimento de la hifósfera (**Figura 4**). La fracción de 0.25 a 1.00 mm se asoció negativamente con los marcadores microbianos de bacterias Gram-, Gram+ y actinomicetos, mientras que la fracción ≤ 0.25 mm se asoció negativamente con marcadores microbianos de organismos filamentosos (**Figura 4**). El modelo explicó un 33% de la varianza dónde el rda1 aportó un 23% de la variación. La R^2 ajustada fue de 0.175.

Las correlaciones entre variables mostraron relaciones significativas entre las variables de respuesta (fracciones de agregados y actividad enzimática), pero no con marcadores microbianos específicos (**Tabla MS1**).

El análisis de partición de redundancia parcial se explicó de manera opuesta con respecto a los atributos medidos. El modelo para las fracciones de agregados ($p=0.002$) explicó un 37% de la variación, de la cual un 17% es explicada por la composición de marcadores microbianos y un 13% por los factores edad sucesional y compartimento. El modelo para las actividades enzimáticas ($p=0.022$) explica un 17% de la variación, la cual se divide en un 10% para los factores edad y compartimento y un 4% para la comunidad microbiana. Esto indica que para los agregados es más importante la composición

microbiana, mientras que para la actividad enzimática son más importantes el lugar de procedencia del inóculo y la rizósfera (**Figura MS2**).

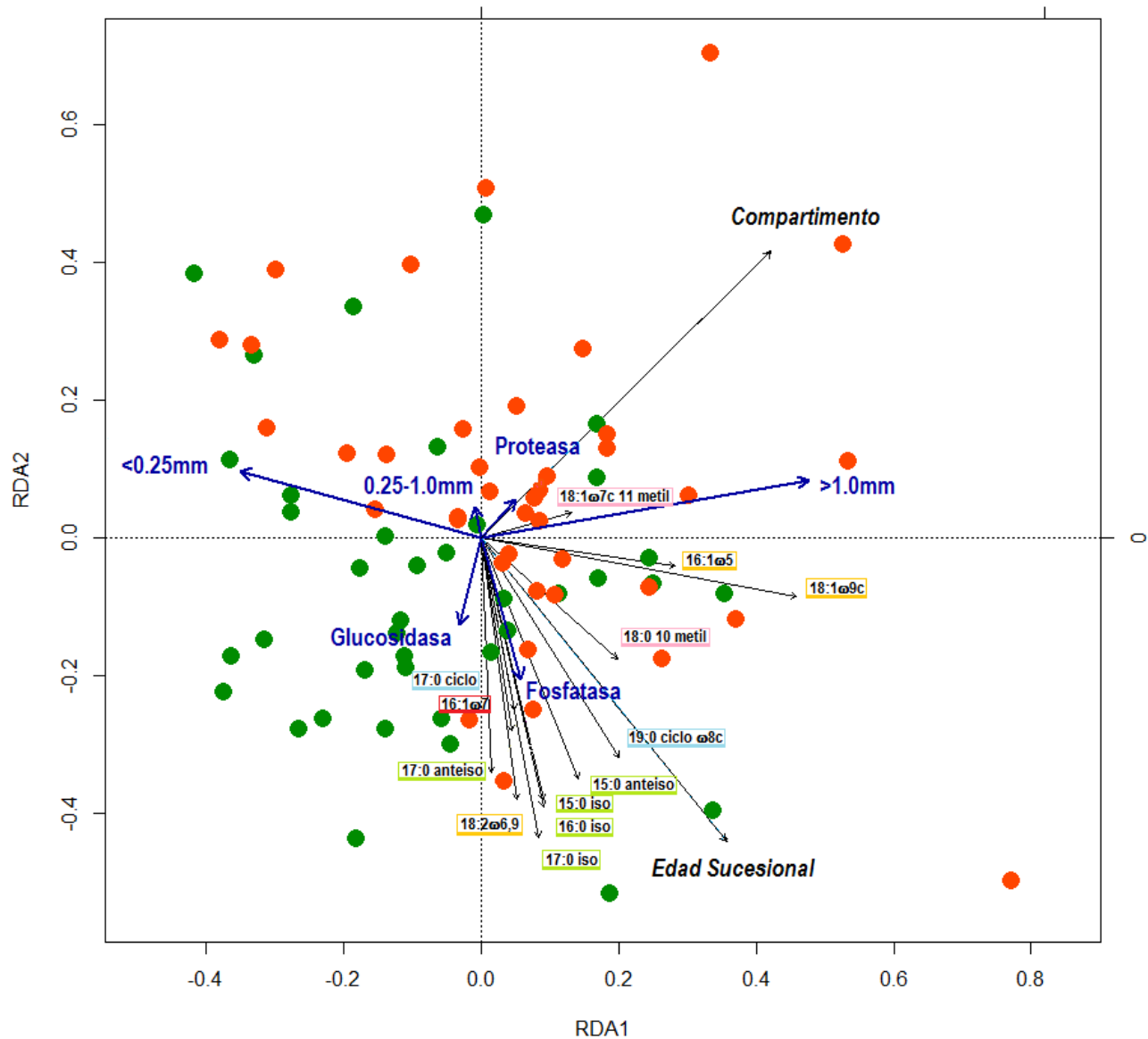


Figura 4. Análisis de redundancia que incluye todas las variables de respuesta (fracciones de agregados y actividad enzimática) y los factores (edad sucesional y compartimento) en relación con la abundancia de marcadores microbianos de ácidos grasos. Los puntos verdes señalan la rizósfera y los puntos verdes la hifósfera. Las cajas corresponden a distintos grupos microbianos: rosa = actinomicetos, amarillo = hongos, azul = bacterias Gram negativas, verde claro = bacterias Gram positivas y rojo = bacterias.

Contribución de los HMA en los atributos de efecto

La suma total de fosfolípidos (biomasa microbiana total) no presentó diferencias significativas entre compartimentos o edad de procedencia del inóculo. Sin embargo, la biomasa de HMA del marcador NLFA16:1 ω 5c, así como el cociente NLFA:PLFA del marcador (16:1 ω 5c), mostraron diferencias significativas con respecto al compartimento ($p=0.007$ y $p=0.004$). En ambos atributos es mayor en el compartimento de la rizósfera, lo que indica que como era de esperarse hay mayor abundancia de HMA cerca de las raíces (**Figura 5**). Por otra parte, este marcador microbiano presentó una relación positiva con la fracción de agregados ≥ 1.00 mm (**Figura 4**).

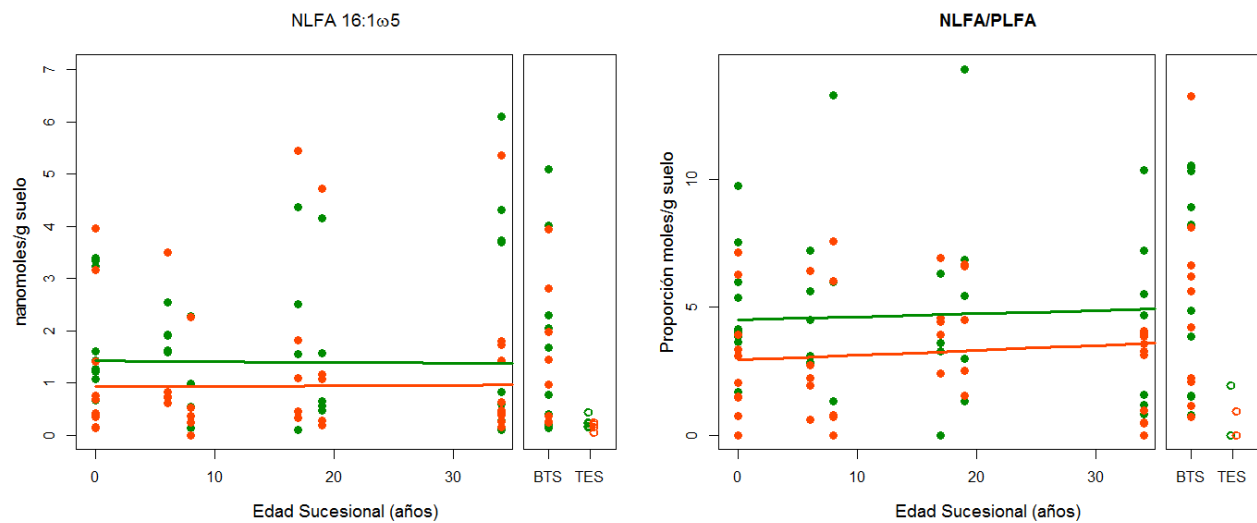


Figura 5 Biomasa de los hongos micorrízicos arbusculares (NLFA) y proporción NLFA:PLFA (Marcador 16: 1 ω 5c). La caja marca los valores de referencia para el bosque maduro (BTS) y el testigo (TES).

DISCUSIÓN

Como se hipotetizó, la rizósfera y la edad de procedencia del inóculo fueron los factores que promovieron la mayor actividad de grupos microbianos y de actividad enzimática. Sin embargo, la hifósfera presenta una contribución mayor en la formación de agregados de mayor tamaño y en la abundancia de grupos microbianos filamentosos. Los dos efectos evaluados fueron promovidos por factores diferentes; mientras que la agregación fue promovida por la composición de grupos microbianos, especialmente hongos, la actividad enzimática fue promovida por la presencia de las raíces y aumentó con la edad sucesional del inóculo.

Agregación y actividad enzimática

Este experimento simuló de manera experimental la capacidad de formar agregados de las comunidades de organismos presentes en diferentes etapas de la sucesión para poder separar la contribución específica de cada comunidad. La agregación del suelo fue promovida sobretodo por la hifósfera para las dos fracciones de agregados mayores (0.25 a 1.0 mm y ≥ 1.0 mm) y esto concuerda con una revisión reciente en la que se observa que la habilidad de los HMA para agregar el suelo es comparable a la de las raíces (Lehmann et al., 2017) e incluso mayor. La edad sucesional de las comunidades de HMA tuvo un efecto pequeño pero positivo en la formación de macroagregados (0.25 a 1.0 mm y ≥ 1.0 mm) y un efecto negativo en la fracción menor (≤ 0.25 mm), la cual se esperaba que disminuyera al estarse incorporando a las fracciones de macroagregados. Algunos estudios de campo realizados en la misma región (García-Oliva & Maass, 1998; Martínez-Trinidad et al., 2008; Chávez-Macedo, 2013) y otras zonas tropicales (Dulchinela et al., 2013),

muestran que la agregación del suelo se recupera conforme pasan los años en regeneración natural.

Los resultados en general apoyan otros estudios que muestran que las hifas, al igual que la raíces, son capaces de proveer la maquinaria inicial necesaria para la formación de macroagregados (Jastrow & Miller, 1998; Hallet et al., 2009), mediante efectos físicos, bioquímicos y biológicos (Rillig & Mummey, 2006). Además, la mayor promoción de la agregación por parte de la hifósfera podría deberse a sus características cementantes y de repelencia al agua (Rillig et al., 2010) que le darían mayor estabilidad a la fracción más grande. Por otra parte, suponemos que el aumento de la agregación con la edad sucesional de la comunidad, puede estar dado por el legado histórico del inóculo utilizado (Teste & Dickie, 2017). Es decir, que contiene el resultado del proceso de selección y adaptación de las especies, no solo de los HMA, a los cambios ambientales tanto bióticos como abióticos (Koide et al., 2014) que se presentan durante la sucesión. En este contexto, nuestros resultados sugieren que los inóculos provenientes de edades sucesionales avanzadas podrían presentar la capacidad funcional de la agregación más desarrollada que inóculos provenientes de edades iniciales o potreros, y coinciden con las observaciones hechas directamente en campo (Chavez-Macedo, 2014; Ayala-Orozco et al., 2017). Además, las proporciones de las fracciones de agregados encontradas en este experimento son consistentes con las encontradas en campo bajo algunas de las coberturas vegetales examinadas y usando la misma metodología para cuantificar los agregados (Murguía-Flores, 2012; Carmona-Valadés, 2013; Chávez-Macedo, 2014) e incluso usando métodos ligeramente distintos (Cotler & Ortega-Larrocea, 2006; Martínez-Trinidad et al., 2012) a los del presente estudio. Aunque algunos autores (García-Oliva et al., 2006) reportaron valores mucho más altos en la fracción de macroagregados que los trabajos anteriores.

A diferencia de la agregación del suelo, la actividad enzimática fue mayor en el compartimento de la rizósfera que en el de la hifósfera para el caso de la β -glucosidasa y la fosfatasa, y similar en ambos compartimentos para la proteasa. Esto puede deberse a que la rizósfera es una zona más dinámica por la liberación de nutrientes de los exudados radicales, lo que favorecería la dinámica de desintegración – formación de los agregados (Rillig et al., 2015) y con ello se promovería la liberación de nutrientes y agua que son aprovechados por los microorganismos (Priyhadharsini et al., 2016).

De las tres enzimas analizadas en este trabajo, la actividad de la fosfatasa fue la más alta y presentó valores un poco por debajo de los encontrados previamente para la zona (Murguía-Flores, 2014; Chávez-Macedo, 2014; Sandoval-Pérez et al., 2009), pero dentro de los rangos de actividad de esta enzima (Kandeler, 2015; Plante, 2015). Al igual que en estudios previos en esta zona (Chávez-Macedo, 2014), en otros ecosistemas tropicales (Alvear et al., 2007; Acosta-Martínez et al., 2007) y otros estudios de cronosecuencias (Welc et al., 2014), la actividad de esta enzima aumentó positivamente con la edad sucesional o con la cobertura vegetal. Por otra parte, esto concuerda con el aumento en la cantidad de P disponible durante la sucesión en suelo para la zona de Chamela en una comparación entre pastizal, bosque secundario y bosque maduro (Sandoval-Pérez et al., 2009).

La actividad enzimática de este trabajo se mantuvo en rangos bajos, quizás por el tipo de planta hospedera que es de lento crecimiento, o por la falta de competencia entre raíces ya que solo había una planta por maceta. Se ha reportado que la agregación depende de la interacción entre las especies de plantas y de hongos (Piotrowski et al., 2004), y en el presente estudio variamos las comunidades de HMA (Carrillo-Saucedo et al., 2018) pero mantuvimos siempre la misma planta para facilitar la interpretación.

Relación entre la composición de las comunidades microbianas y los atributos de efecto

Aunque la biomasa total de los microorganismos no difirió entre compartimentos, su composición sí. Lo anterior puede deberse a que la rizósfera al ser la zona de mayor liberación de exudados promueve el crecimiento de bacterias que se caracterizan por crecer rápidamente y degradar sustratos lábiles, en cambio en la hifósfera que sería una zona con mayor presencia de sustratos recalcitrantes promueve el crecimiento de organismos que pueden romper ese tipo de sustratos, como los hongos y actinomicetos (Chapin et al., 2002).

En la partición de la variación (**Figura MS2**), las fracciones de macroagregados (0.25 a 1.0 y ≥ 1.0 mm) presentaron una mayor abundancia de grupos microbianos, y los agregados ≥ 1.0 mm, estuvieron asociados mayormente a grupos microbianos filamentosos como los HMA, actinomicetos, y otros hongos. Lo anterior concuerda con la idea de que los organismos filamentosos son promotores de la agregación (Leihfetz & Rillig, 2015) y que además la agregación depende de la recuperación de las comunidades de hongos cuando las prácticas de manejo cesan (Waldrop et al., 2000; Dulchinela et al., 2007).

La actividad enzimática proteasa estuvo muy asociada a la biomasa de un marcador para actinomicetos (18:1 ω 7c11 metil) mientras que la fosfatasa se asoció a dos marcadores de hongos (16:1 ω 5, 18:1 ω 9c) y uno de bacterias (16:1 ω 7). La β -glucosidasa tuvo la mayoría de marcadores procariotas asociados y además un marcador de hongos (18:2 ω 6,9). Estos resultados concuerdan con lo propuesto por Welc y colaboradores (2014), que muestran que la actividad enzimática puede ser afectada por el tipo de organismos presentes. Por otra parte, las tres actividades enzimáticas se relacionaron positivamente entre sí (**Cuadro MS1**) lo que sugiere que los nutrientes liberados por su acción podrían contribuir a reducir

la limitación por varios nutrientes que en algunos casos puede restringir su actividad (Allison & Vitousek, 2005).

Contribución de los HMA en los atributos de efecto

La biomasa total de los marcadores microbianos fue muy similar para ambos compartimentos. Nuevamente los resultados sugieren que los HMA extienden la zona de actividad biológica mucho más allá de la rizósfera, que son unos cuantos milímetros. La mayor abundancia del marcador de HMA (NLFA 16:1 ω 5c) y el cociente NLFA:PLFA (16:1 ω 5c) en el compartimento de la rizósfera indica que en la rizósfera hay un flujo de C constante de la planta al hongo que podría utilizarse para la construcción de vesículas y esporas, mientras que en la hifósfera indicaría que el C está migrando hacia el micelio externo en su actividad forrajera como se ha visto en experimentos de maceta dividida (Olsson, 1999; Gavito & Olsson, 2003). En este caso, en la zona cercana a la rizósfera los HMA tienden a almacenar reservas además de crecer, mientras que en la hifósfera asignarían su biomasa principalmente al crecimiento para explorar el suelo.

Los valores de biomasa (NLFA 16:1 ω 5c y NLFA:PLFA 16:1 ω 5c) encontrados en este trabajo no fueron muy altos pero sí mayores a uno, indicando que el marcador forma parte de la actividad de los HMA y no de bacterias (Zelles, 1999; Ruess & Chamberlain, 2010). Estos valores son comparables con los encontrados en campo por Murguía-Flores (2014) y Carmona-Valadés (2013) en el suelo de pastizales manejados. Algunos grupos de hongos solo son capaces de secretar enzimas extracelulares si en su micelio se encuentran viviendo bacterias solubilizadoras de P (Smith & Smith, 2011; Kaiser et al., 2015; Zhang et al., 2016). Lo anterior pudiera estar relacionado con el resultado de que, la mayor actividad enzimática en nuestro estudio se encontró en el compartimento de la rizósfera.

La actividad de fosfatasa fue la que más se relacionó positivamente con la hifósfera, la edad sucesional de las comunidades de HMA y la abundancia de HMA. Esto indica que la contribución de los HMA a esta actividad enzimática fué importante en este estudio aún cuando hay otros marcadores de bacterias (16:1 w7) y de hongos (18:1 w9) que también se asocian positivamente con la fosfatasa (**Figura MS2**). Por su parte la proteasa y la β -glucosidasa no se relacionaron con los HMA. Estas dos enzimas parecen más relacionadas con las condiciones físicas, químicas y biológicas que presentan las fracciones y que se ha documentado que influyen en la actividad microbiana (Waldrop et al., 2000; Huang et al., 2009). A diferencia de la fosfatasa y la deshidrogenasa, que han sido bien documentadas como actividades enzimáticas de los HMA (Saito, 1995), no se sabe si las otras dos enzimas pueden ser producidas directamente por los HMA, o solo favorecen con su presencia las actividades de otros microorganismos. A la fecha se sabe muy poco de la actividad enzimática directa de los HMA y se asume que tienen poca capacidad enzimática (Joner et al., 2000; Read & Pérez-Moreno, 2003; Treseder & Lennon, 2015), pero algunos reportes de HMA desarrollándose en zonas de descomposición sugieren que existen algunas actividades más (Aristizábal et al., 2004; Gui et al., 2017; Tu et al., 2006). No obstante, sean producidas directamente por los HMA o sean promovidas por otros microorganismos asociados a la hifósfera, las actividades enzimáticas son cruciales para el ciclaje de nutrientes y, el que se mantengan niveles de actividad similares en la rizósfera y en la hifósfera tiene implicaciones fuertes en esta función ecosistémica del suelo porque se extiende la zona de actividad mucho más allá de la influencia directa de las raíces.

A pesar de que las comunidades de HMA provenientes de diferentes edades sucesionales se mostraron resistentes (Carrillo-Saucedo et al., 2018) y fueron muy similares, pudimos observar que las comunidades mostraron diferentes atributos

funcionales de efecto. Lo anterior sugiere que estos atributos pudieran ser la suma de las respuestas adaptativas de cada comunidad sucesional (Griffits & Phillipot, 2012; Hawkes & Keit, 2015) y esta respuesta, puede ser producto de la alta variabilidad intraespecífica en HMA (Munkvold et al., 2004), la tolerancia y adaptación fisiológica de HMA (Capítulo 2) y/o la versatilidad metabólica microbiana (Griffits & Phillipot, 2012). En el marco de la ecología funcional, lo anterior nos lleva a pensar que cada comunidad sucesional, de HMA, presenta atributos funcionales particulares como se ha propuesto para las plantas (Lavorel & Garnier, 2002; Gross et al., 2008; Suding et al., 2008) aunque en este caso, no podemos saber la contribución de cada especie de HMA de manera individual, sino a nivel de la comunidad.

Reconocemos que las condiciones del experimento, simplificadas y restringidas no necesariamente reflejan la acción de las comunidades de HMA y los cambios en la agregación que ocurren en el campo por la influencia de otros tipos de suelo, vegetación, topografía y/o prácticas de manejo. Sin embargo, nos ayudan a entender los factores que promueven estas capacidades con el fin de establecer otro tipo de estudios.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio prueban que durante la sucesión natural del bosque tropical seco de Chamela, observamos que hay una relación entre la edad sucesional del inóculo y los efectos medidos.

La comunidad de hongos micorrízicos arbusculares tuvo un mayor aporte en la formación de agregados de mayor tamaño. Por su parte la capacidad enzimática está influenciada principalmente por la presencia de las raíces. Los resultados mostraron que en general los atributos de efecto analizados se recuperan con la sucesión.

AGRADECIMIENTOS

A Emanuel García, Gustavo Verduzco Robles y Abel Verduzco Robles por su apoyo en el cuidado del experimento en la estación de Biología Chamela. Al Biol. Raúl Ahedo y al Dr. Manuel Maass por facilitarme los datos de precipitación y a la Dra. Eugenia González del Castillo por los datos de temperatura de la zona de estudio.

Apéndice A. Material Suplementario

Figuras y Tablas que complementan los resultados de este capítulo

REFERENCIAS

- Acosta-Martínez V., Cruz L., Sotomayor-Ramírez D., Pérez-Alegría L. 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Applied Soil Ecology* 35(1), 35-45.
- Alberton O., Kuyper T., Gorissen A. 2005. Taking mycocentrism seriously: mycorrhizal fungal and plant responses to elevated CO². *New Phytologist* 167(3), 859-868
- Allison S., Vitousek P. 2005. Responses of extracellular enzymes to simple and complex nutrient inputs. *Soil Biology & Biochemistry* 37, 937-944.
- Alvear M., Urrea C., Huaiquilao R., Astorga M., Reyes F. 2007. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal* 7(3), 38-50.
- Angers A., Bullock M. G. Mehuys. 2006. Aggregate Stability to Water. En: Carter M., Gregorich E. Soil sampling and methods of analysis. 2da. Edición. Taylor & Francis. Canadian Society of soil Science.
- Aristizabal C., Rivera E., Janos D. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi colonize decomposing leaves of *Myrica parvifolia*, *M. pubescens* and *Paeplanthus* sp. *Mycorrhiza* 14, 221-228.
- Arriagada C., Manquel D., Cornejo P., Soto J., Sampedro I., Ocampo J. 2012. Effects of the co-inoculation with saprobe and mycorrhizal fungi on *Vaccinium corymbosum* growth and some soil enzymatic activities. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 12(2), 283-294
- Ayala-Orozco B., Gavito M. E., Mora F., Siddique I., Balvanera P., Jaramillo V. J., Cotler H., Romero-Duque L. P., and Martínez-Meyer E. (2017) Resilience of Soil Properties to

Land-Use Change in a Tropical Dry Forest Ecosystem. *Land Degradation y Development* doi: [10.1002/ldr.2686](https://doi.org/10.1002/ldr.2686).

- Douglas Bates, Martin Maechler, Ben Bolker, Steve Walker (2015). Fitting LinearMixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software*, 67(1), 1-4doi:10.18637/jss.v067.i01.
- Kamil Barton (2016). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.15.6. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Bocard D., Gillet F., P. Legendre. 2011. Numerical ecology with R. Springer, New York. U. S. A.
- Bronick C., Lal R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124, 3-22
- Camenzind T., Rillig M. 2013. Extraradical arbuscular mycorrhizal fungal hyphae in an organic tropical montane forest soil. *Soil Biology & Biochemistry* 64, 96-102
- García-Izquierdo C. 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos. Ediciones Mundi-Prensa.
- Carmona-Valadez L. 2013. Respuesta de las propiedades del suelo de parcelas ganaderas de Chamela Jalisco a tratamientos de sombra y adición de MO con fines de recuperación de algunas funciones ecosistémicas del suelo. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Cavagnaro T. 2016. Soil moisture legacy effects, Impacts on soil nutrients, plants and mycorrhizal responsiveness. *Soil Biology & Biochemistry* 95, 173-179.
- Chávez-Macedo D. 2014. Evaluación de la calidad del suelo en parcelas agrícolas ganaderas y sucesionales en la costa sur de Jalisco México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chotte J. 2005. Importance of microorganisms for soil aggregation. In *Microorganisms in soils: roles in genesis and functions*. Pp. 107-119. Springer, Berlin, Heidelberg
- Cotler H., Durán E. C. Siebe. 2002. Caracterización morfo-edafológica y calidad de sitio de un bosque tropical caducifolio. En: Noguera F., Vega J., García-Alderete A., Quesada E., (Eds). *Historia Natural de Chamela*, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, D.F. 17-79
- Cotler H., Ortega-Larrocea M. 2005. Effects of land use on soil erosion in a tropical dry forest ecosystem, Chamela watershed, México. *Catena* 65(2), 107-117
- Dick R. 2011. Methods of soil enzymology. Madison, WI: Soil Science Society of America.
- Dighton J. 2003. Fungi in Ecosystem Processes. Vol 17, Mycology. Ed. Marcel Decker. USA 432 pp.
- Dominati E., Patterson M., Mackay A. 2010. A framework for classifying and quantifying the natural capital and ecosystem services of soils. *Ecological Economics* 69(9), 1858-1868.

- Dodd J., Boddington C., Rodriguez A., Gonzalez-Chavez C., Mansur I. 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant & soil* 226,131-151.
- Duchicela J., Sullivan T., Bontti E., Bever J. 2013. Soil aggregate stability increase is strongly related to fungal community succession along an abandoned agricultural field chronosequence in the Bolivian Altiplano. *Journal of Applied Ecology* 50(5), 1266-1273.
- Eivazi F., Tabatabai M. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 20(5), 601-606.
- Eldor P. (2015). Soil microbiology, ecology and biochemistry. Academic press.
- Falconer R., Houston A., Otten W., Baveye P. 2012. Emergent behavior of soil fungal dynamics: Influence of soil architecture and water distribution. *Soil Science* 177(2), 111-119.
- Friese C., Allen M. 1991. The spread of VA mycorrhizal fungal hyphae in the soil: inoculum types and external hyphal architecture. *Mycologia* 83,409-418
- Frostegård Å., Bååth E., Tunlio A. 1993. Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipid fatty acid analysis. *Soil Biology & Biochemistry* 25(6), 723-730.
- García C., Gil F., Hernández T., Trasar C. 2003. Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana. Mundi-Prensa, Madrid
- García-Oliva F., Maass J. M. (1998). Efecto de la transformación de la selva a pradera sobre la dinámica de los nutrientes en un ecosistema tropical estacional en México. *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 62, 39-48.
- García-Oliva F., Sanford Jr. R., Kelly E. 1999. Effects of Slash-and-burn Management on Soil Aggregate Organic C and N in a tropical Deciduous Forest. *Geoderma* 88 (1-2), 1-12.
- García-Oliva F., Gallardo J., Montañó N., Islas P. 2006. Soil carbon and nitrogen dynamics followed by a forest-to-pasture conversion in western Mexico. *Agroforestry Systems* 66 (1), 93-100.
- Gavito M., Olsson P. 2003. Allocation of plant carbon to foraging and storage in arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiology Ecology* 45(2), 181-187.
- Griffiths B., Philippot L. (2013). Insights into the resistance and resilience of the soil microbial community. *FEMS microbiology reviews* 37(2), 112-129.
- Gross N., Robson T., Lavorel S., Albert C., Bagousse-Pinguet L., Guillemin R. 2008. Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *New Phytologist* 180(3), 652-662
- Gui H., Purahong W., Hyde K., Xu J., Mortimer P. 2017. The arbuscular mycorrhizal fungus *Funneliformis mosseae* alters bacterial communities in subtropical forest soils during litter decomposition. *Frontiers in microbiology* 8, 1120

- Hallet P., Feeney D., Glyn-Bengough A., Rillig M., Scrimgeour C., Young I. 2009. Disentangling the impact of AM fungi versus roots on soil structure and water transport. *Plant and soil* 314,183-196
- Hawkes C., Keitt T. 2015. Resilience vs. historical contingency in microbial responses to environmental change. *Ecology letters* 18(7), 612-625.
- Jastrow J., Miller R., Lussenhop J. 1998. Contributions of interacting biological mechanisms to soil aggregate stabilization in restored prairie. *Soil Biology & Biogeochemistry* 30,905-916
- Jastrow J., Miller R. 1998. Soil aggregate stabilization and carbon sequestration: feedbacks through organomineral associations, in: Lal R., Kimble J., Follett R., Stewart B. (Eds.), *Soil processes and the carbon cycle*, CRC Press, United States. Pp. 207–223.
- Johnson N., Hoeksema J., Bever J., Chaudhary B., Gehring C., Klironomos J., Koide R., Miller M., Moore J., Moutoglou P., Schwartz M., Simard S., Swenson W., Unbanhowar J., Wilson G., Zabinski C. 2006. From Lilliput to Brobdingnag: Extending models of mycorrhizal function across scales. *BioScience* 56(11), 889-900
- Joner E., van Aarle I., Vosatka M. 2000. Phosphatase activity of extraradical arbuscular mycorrhizal hyphae: a review. *Plant and Soil* 226, 199-210.
- Kaiser C., Kilburn M., Clode P., Fuchslueger L., Koranda M., Cliff J., Solaiman Z., Murphy D. 2015. Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation. *New Phytologist* 205,1537–1551
- Kandeler E. 2015. Physiological and biochemical methods for studying soil biota and their function. En: Eldor P. *Soil microbiology, ecology and biochemistry*, 187 - 222.
- Ladd J., Butler J. 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology & Biochemistry* 4(1), 19-30.
- Lavorel S., Garnier É. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional ecology* 16(5), 545-556
- Lehmann A., Leifheit E., Rillig M. 2017. Mycorrhizas and soil Aggregation. En: Johnson N, Gehring C Jansa J. *Mycorrhizal mediation of soil, fertility, structure and carbon storage*. Elsevier Academic Press 2017. Pp. Cap14
- Lynch J., Bragg E. 1985 Microorganisms and Soil Aggregate Stability. In: Stewart B.A. (eds) *Advances in Soil Science*. Advances in Soil Science, vol 2. Springer, New York, NY
- Lal R. 1997. Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences* 352(1356), 997-1010.
- Lebrija-Trejos E., Pérez-García E., Meave J., Poorter L., Bongers F. 2011. Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 27(5), 477-489.

- Martínez-Trinidad S., Cotler H., Etchevers-Barra J., Ordaz-Chaparro V., León-González F. 2008. Efecto del manejo en la agregación del suelo en un ecosistema tropical seco. *Terra Latinoamericana* 26(4), 299-307.
- Martínez-Trinidad S., Cotler H., Cruz-Cardenas G. 2012. The aggregates stability indicator< ASItest> to evaluate soil spatiotemporal change in a tropical dry ecosystem. *Journal of soil science and plant nutrition* 12(2), 363-377.
- McDonald M., Healey J. 2000. Nutrient cycling in secondary forests in the blue mountains of Jamaica. *Forest Ecology and Management* 139, 257-278.
- Miles L., Newton A., DeFries R., Ravilious C., May I., Blyth S., Kapos V., Gordon J. 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forests. *Journal of Biogeography* 33(3), 491-505.
- Miller P., Kauffman J. 1998. Effects of slash and burn agriculture on species abundance and composition of a tropical deciduous forest. *Forest Ecology and Management* 103(2), 191-201.
- Monger C., Sala O., Duniway M., Goldfus H., Meir I., Poch R., Throop H., Vivoni E. 2015. Legacy effects in linked ecological–soil–geomorphic systems of drylands. *Frontiers in Ecology and the Environment* 13(1), 13-19.
- Mummey D., Rillig M. 2006. The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant and Soil* 288(1-2), 81-90
- Murguía-Flores F. 2012. El efecto de las especies leñosas, en la recuperación natural de los suelos posterior al uso ganadero, en la región de Chamela, Jalisco. UNAM. Tesis de maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- O'Neill E., O'Neill R., Norby R. 1991. Hierarchy theory as a guide to mycorrhizal research on large-scale problems. *Environmental Pollution* 73(3-4), 271-284.
- Oades J. 1993. The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil structure. *Geoderma* 56,377-400
- Oksanen J, Blanchet F., Friendly M., Kindt R., Legendre P., McGlinn D., MinchinP., O'Hara R., Simpson G., Solymos P., Stevens M., Szoecs E., Wagner H. 2017. vegan: Community Ecology Package. R package version 2.4-2. <https://CRAN.R-project.org/package=vegan>
- Olsson P., Thingstrup I., Jakobsen I., Bååth E. 1999. Estimation of the biomass of arbuscular mycorrhizal fungi in a linseed field. *Soil Biology & Biochemistry* 31, 1879-1887
- Plante A., Stone M., McGill W. 2015. The Metabolic Physiology of Soil Microorganisms. En: Eldor P. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry, Pp. 245.
- Priyadharsini P., Rojamala K., Ravi R., Muthuraja R., Nagaraj K., Muthukumar T. 2016. Mycorrhizosphere: The Extended Rhizosphere and Its Significance. In Plant-Microbe Interaction: An Approach to Sustainable Agriculture. Pp. 97-124. Springer Singapore.

- R-Core Team. 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Read D., Pérez-Moreno J. 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling: a journey towards relevance? *New Phytologist* 157, 475-492.
- Rillig M., Wright S., Eviner V. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil* 238(2), 325-333.
- Rillig M. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin and soil aggregation. *Canadian Journal of Soil Science* 355-363
- Rillig M., Lutgen E., Ramsey P., Klironomos J., Gannon J. 2005. Microbiota accompanying different arbuscular mycorrhizal fungal isolates influence soil aggregation. *Pedobiologia* 49(3), 251-259.
- Rillig M., Mummey D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171,41-53
- Rillig M., Mardatin N., Leifheit E., Antunes P. 2010. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi increases soil water repellency and is sufficient to maintain water-stable soil aggregates. *Soil Biology and Biochemistry* 42(7), 1189-1191.
- Rillig M., Aguilar-Trigueros C., Bergmann J., Verbruggen E., Veresoglou S., Lehmann A. 2015. Plant root and mycorrhizal fungal traits for understanding soil aggregation. *New Phytologist* 205, 1325 – 1388.
- Ruess L., Chamberlain P. 2010. The fat that matters: soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biology & Biochemistry* 42(11), 1898-1910.
- Saito M. 1995. Enzyme activities of the internal hyphae and germinated spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Gigaspora margarita* Becker Hall. *New Phytologist* 129, 425-431.
- Sandoval-Pérez A., Gavito M., García-Oliva F., Jaramillo V. 2009. Carbon, nitrogen, phosphorus and enzymatic activities in soils under different land use types in a tropical dry ecosystem. *Soil Use and Management* 25, 419- 426.
- Six J., Feller C., Denef K., Ogle S., de Moraes-Sa J., Albrecht A. 2002. Soil organic matter, biota and aggregation in temperate and tropical soils-Effects of no-tillage. *Agronomie* 22(7-8), 755-775.
- Smith S., Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3^{ed}. Academic Press, London.
- Smith S., Smith F. 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annual Review of Plant Biology* 62,227–250
- Suding K., Lavorel S., Chapin F., Cornelissen J., Diaz S., Garnier E., Golberg D., Hooper D., Jackson S., M. Navas. 2008. Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology* 14(5), 1125-1140
- Tabatabai M. 1994. Soil enzymes. *Methods of Soil Analysis: Part 2—Microbiological and Biochemical Properties* 2, 775-833.

- Tabatabai M., Bremner J. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil biology & biochemistry* 1(4), 301-307.
- Teste F., Dickie I. 2017. Mycorrhizas Across Successional Gradients. En: *Mycorrhizal Mediation of Soil* Pp. 67-89.
- Tisdall J., Oades J. 1982. Organic matter and water-stable aggregates in soils. *European Journal of Soil Science* 33(2), 141-163.
- Tu C., Booker F., Watson D., Chen X., Ruffy T., Shi W., Hu S. 2006. Mycorrhiza mediation of plant N acquisition and residue decomposition: impact of mineral N inputs. *Global Change Biology* 12, 793-893.
- Vestal J., White D. 1989. Lipid analysis in microbial ecology: quantitative approaches to the study of microbial communities. *BioScience* 39(8), 535-541
- Voroney R., Heck R. 2015. The soil habitat. En: Eldor P. *Soil microbiology, ecology, and biochemistry*, Academic Press Pp. 25-49.
- Waldrop M., Balser T., Firestone M. 2000. Linking microbial community composition to function in a tropical soil. *Soil Biology and Biochemistry* 32(13), 1837-1846.
- Wilson G., Rice C., Rillig M., Springer A., Hartnett D. 2009. Soil aggregation and carbon sequestration are tightly correlated with the abundance of arbuscular mycorrhizal fungi: results from long-term field experiments. *Ecology letters* 12(5), 452-461
- Wright S., Upadhyaya A. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and soil* 198(1), 97-107.
- Zelles L. 1999. Fatty acid patterns of phospholipids and lipopolysaccharides in the characterisation of microbial communities in soil: a review. *Biology and fertility of soils* 29(2), 111-129.
- Zhang L., Xu M., Liu Y., Zhang F., Hodge A., Feng G. 2016. Carbon and phosphorus exchange may enable co-operation between an arbuscular mycorrhizal fungus and a phosphate-solubilizing bacterium. *New Phytologist* 210, 1022–1032

MATERIAL SUPLEMENTARIO

Figuras

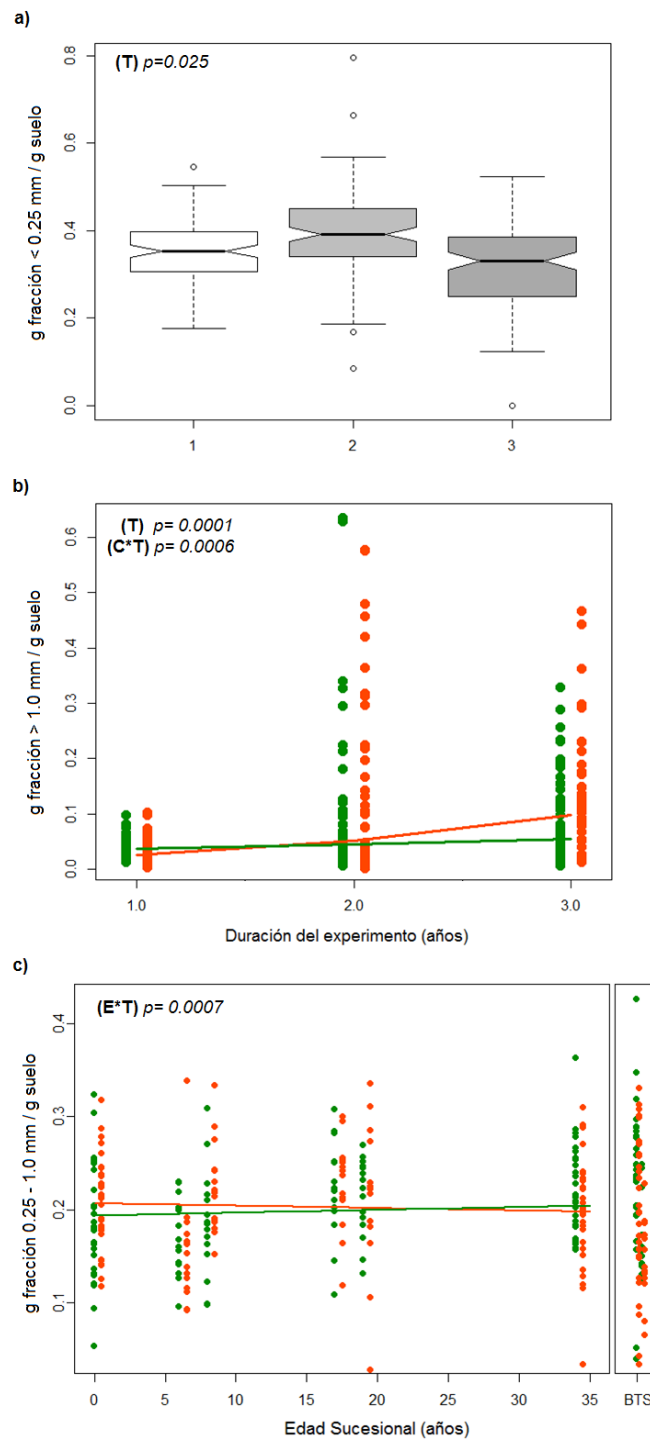


Figura MS1. Cantidad de agregados estables en la fracción 0.25-1. Los valores en verde son de la rizósfera y los rojos los de la hifósfera. Los valores de la comunidad de BTS maduro se muestran por separado para fines de comparación visual.

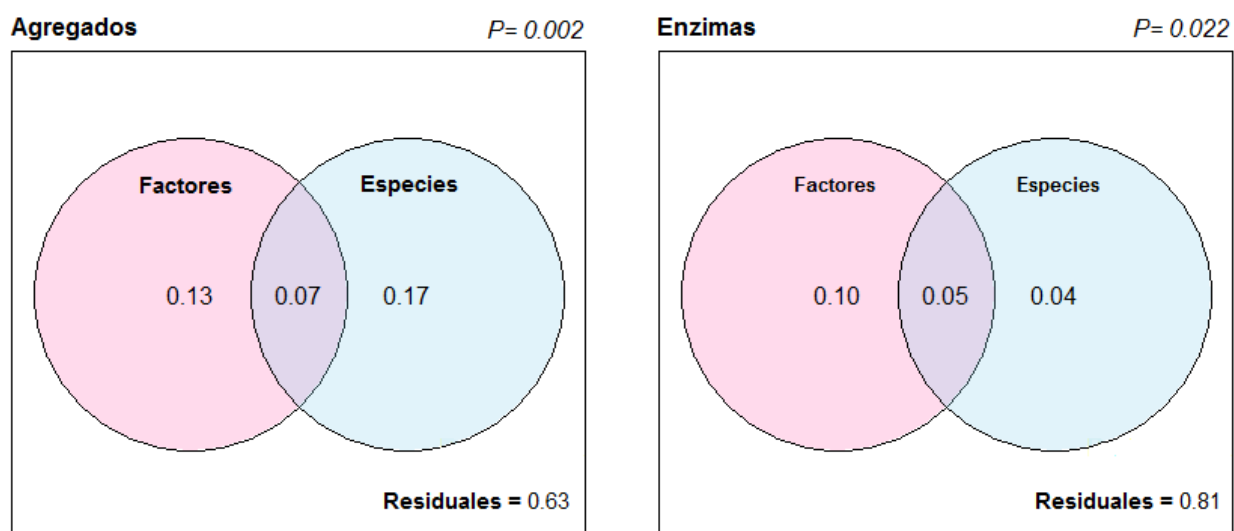


Figura MS2. Partición de la variación para las variables de respuesta para los modelos de las fracciones de agregados y actividad enzimática. Factores = compartimento y edad sucesional, Especies = Marcadores microbianos analizados.

Cuadro

Cuadro MS1 Correlaciones de Spearman entre las variables de respuesta (fracciones de agregados y actividad enzimática potencial)

	Fosfatasa		Proteasa		β -Glucosidasa		Fracción ≤ 0.25 mm y otras partículas		Fracción 0.25 a 1.0 mm		Fracción ≥ 1.0 mm	
	Rizósfera	Hifósfera	Rizósfera	Hifósfera	Rizósfera	Hifósfera	Rizósfera	Hifósfera	Rizósfera	Hifósfera	Rizósfera	Hifósfera
Edad.N	0.51 ***	0.50 **	0.15	0.25	0.18	0.32 *	-0.35 *	-0.30	0.55 ***	0.22	0.27	0.39 *
Fosfatasa			0.39 *	0.32 *	0.37 *	0.31	-0.18	-0.30	0.29	0.00	0.29	0.24
Proteasa					0.43 **	0.23	-0.22	-0.35 *	0.12	-0.07	0.39 *	0.39 *
β - Glucosidasa							-0.33 *	-0.58 ***	0.36 *	0.04	0.25	0.42 **
< 0.25 mm									-0.31	0.27	-0.70 ***	-0.72 ***
0.25 a 1.0 mm											0.12	-0.20

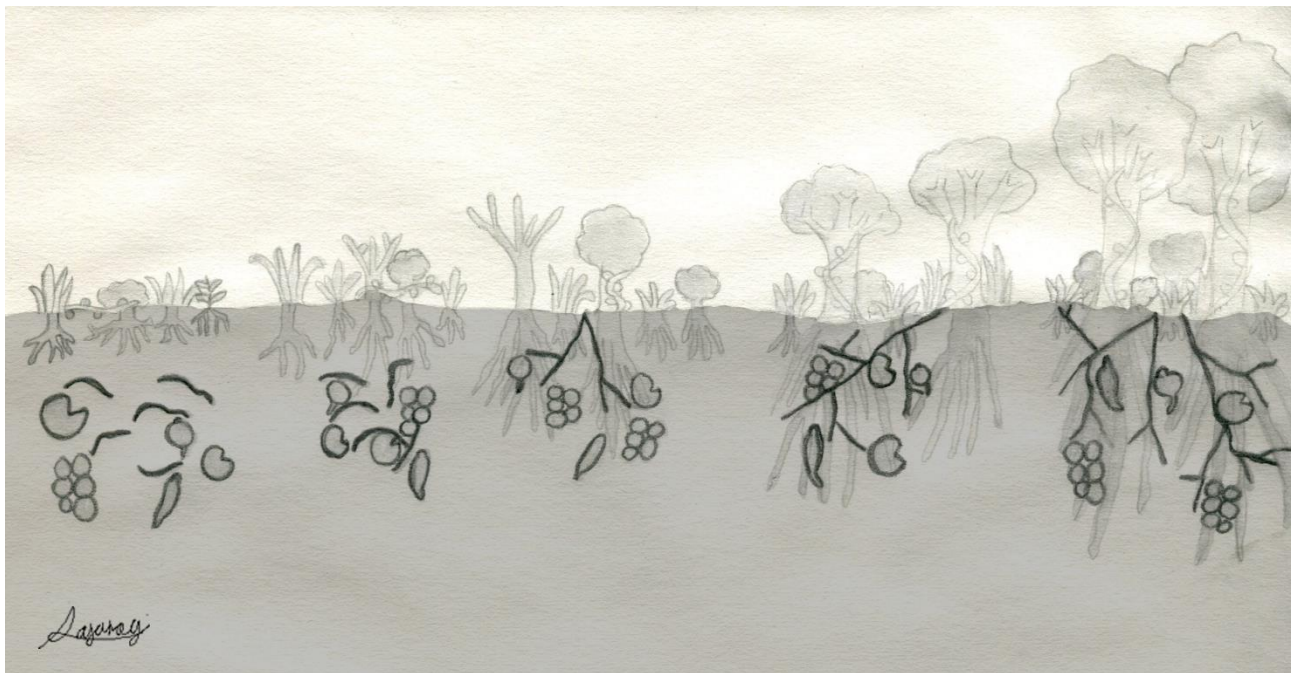
Significancia: $p \leq 0.05$ *, $p \leq 0.01$ **, $p \leq 0.001$ ***

DISCUSIÓN GENERAL Y CONCLUSIONES

Silvia Margarita Carrillo-Saucedo

“... la vida en la Tierra se parece más a un verbo. Repara, conserva, crea y se sobrepasa a sí misma”.

Lynn Margulis y Dorion Sagan
(En: ¿Qué es la vida?)



Este trabajo es uno de los primeros estudios que trata de incorporar los atributos funcionales en el estudio de las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares desde un contexto sucesional.

En el primer capítulo de esta tesis se demostró que, contrario a las predicciones, las comunidades de HMA del Bosque Tropical Seco de Chamela no presentaron diferencias notables en la composición entre las diferentes edades sucesionales. Aunque hubo algunos cambios en las especies presentes, las comunidades de HMA del gradiente sucesional presentaron un mismo patrón de composición que se mantuvo a niveles taxonómicos mayores (género y familia). Este resultado es sorprendente dadas las diferencias que existen a través del gradiente sucesional, en la vegetación (Maza-Villalobos et al 2011a; b; Mora-Ardila et al., 2015), posiblemente en los suelos (Cotler & Ortega-Larrocea, 2005; Sandoval-Pérez et al., 2009), y la historia de uso en los sitios (Trilleras 2008) que fueron elegidos para este estudio. Si bien el enfoque de identificación morfológica basada en caracteres morfológicos de las esporas tiene limitantes y permite recuperar solo una pequeña proporción de las especies que conforman las comunidades de HMA (Varela-Cervero et al., 2016), esta información fue muy similar en el conjunto de sitios que, además en algunos se encuentran separados por más de 20 km entre sí. Solo las especies del género *Gigaspora* estuvieron relacionadas particularmente con un tipo de sitio, los bosques maduros, y con altas concentraciones de amonio en el suelo. Este resultado y la relación negativa entre las especies de las familias Gigasporaceae y Glomeraceae, son las únicas evidencias encontradas que sugieren que algunas especies podrían ser sensibles al filtro ambiental. Por su naturaleza, las especies de *Gigaspora* producen mucho micelio, pero exhiben una colonización de raíces limitada y lenta (Maherali & Klironomos, 2007), lo que podría explicar que a las especies de *Gigaspora* podría costarles más establecerse en las

etapas sucesionales tempranas donde las condiciones son mas estresantes (Lebrija-Trejos et al., 2011). No obstante, a excepción de este resultado, los cambios fueron mínimos. El análisis que se realizó permitió definir que las comunidades de HMA parecen ser muy resilientes porque resistieron los cambios ambientales (naturales o inducidos por el manejo humano) y no, como se había predicho, porque cambiaron y después se recuperaron en el tiempo sucesional. Además existió una baja asociación de la composición con las variables ambientales analizadas, que puede deberse a que el filtro ambiental es menos importante en la selección de las especies presentes que otros factores como la capacidad de dispersión, la deriva genética o los procesos estocásticos (Bahram et al., 2016), o bien a que las variables ambientales medidas no son las que influyen en la composición de las comunidades de HMA. Desde el punto de vista funcional, al mantenerse estables los niveles taxonómicos mayores, es decir la composición filogenética básica de las comunidades de HMA, se conservan también sus funciones, e.i. la captura de P (Maherali & Klironomos, 2007, 2012) y esto podría tener implicaciones en la complementariedad de funciones (Koide, 2000) y por lo tanto en los procesos del ecosistema. En concordancia con que se mantuvo la composición filogenética de las comunidades de HMA, los atributos de respuesta analizados en este trabajo tampoco mostraron cambios entre las dos condiciones de riego comparadas en el capítulo dos. La ausencia de diferencias en los atributos de las comunidades del gradiente sucesional en la condición de riego alto indica que los atributos eran en principio similares para todas ellas y que la condición de riego bajo no las modificó. Sin embargo, se encontraron atributos que responden a la humedad como fueron la longitud total, la fragmentación del micelio y la proporción de hifas finas.

El Bosque Tropical Seco, es un ecosistema altamente estacional dónde predominan plantas que están adaptadas de una u otra manera a la condición de sequía, entonces, los

simbiontes fúngicos podrían también estar adaptados (Chagnon et al., 2013). De hecho, hay evidencia de que los arreglos microbianos de ambientes fluctuantes resisten mejor los cambios ambientales (Hawkes & Keitt, 2015), lo que sugiere que al menos algunos de sus organismos mantienen sus funciones en las nuevas condiciones. Los resultados del presente estudio contrastan con los del trabajo de Leyva (2013), donde trabaja el mismo modelo experimental con una sola especie de la zona, el encuentra que al bajar la humedad la respuesta del micelio baja. En nuestro estudio las diversas comunidades de HMA, presentan valores muy similares de atributos de respuesta entre las edades sucesionales y entre los tratamientos de riego que sugieren que los atributos son muy estables a nivel comunidad y que hay complementariedad y plasticidad funcional dentro de las especies de HMA de la comunidad para absorber los cambios ambientales sin alteraciones mayores.

Los resultados del capítulo dos, se reforzaron con los del capítulo tres, donde otro grupo de atributos relacionados con la capacidad de agregación del suelo y de producir o promover actividades enzimáticas extracelulares en el suelo mostraron nuevamente una gran estabilidad de los atributos en las comunidades, aunque sí se detectaron algunas diferencias dentro del gradiente sucesional. Las actividades enzimáticas (fosfatasa y β -glucosidasa) y la cantidad de los macroagregados (0.25 a 1.00 mm y >1.00 mm) del suelo aumentaron con suelos provenientes de diferentes edades sucesionales, lo que significa que estas capacidades se van recuperando, independientemente del compartimento (rizósfera vs hifósfera). Dependiendo de la capacidad analizada, esta fue mayor en la zona de influencia de los hongos (formación de macroagregados) o en la zona de influencia de la raíz (actividad enzimática). Resalta que aunque se observó una recuperación de ambos grupos de actividades, estos valores no están muy alejados de los del bosque maduro. Entonces, quizás como se ha visto para algunas propiedades del suelo (Ayala-Orozco et

al., 2017), estas funciones se alteran temporalmente pero se recuperan y por lo tanto son resilientes.

Otro resultado interesante, fue que al menos para la formación de macroagregados, las abundancias de los grupos microbianos (no solo los HMA) tuvieron un peso importante en explicar su variación, incluso más que los factores analizados (compartimento, edad sucesional). En nuestro caso, las diferencias dependieron de la capacidad analizada (formación de agregados o actividad enzimática) y además de la comunidad de microorganismos que también estuvo asociada tanto a la rizósfera como a la hifósfera.

Como conclusión general, este trabajo contribuye al entendimiento de los atributos funcionales de los HMA a nivel de comunidad en la sucesión del bosque tropical seco con tres mensajes principales: 1) las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en las diferentes edades sucesionales del bosque tropical seco se mantienen a través del filtro ambiental, 2) los atributos funcionales de respuesta a cambios de humedad fueron similares entre edades sucesionales o tratamientos de riego, lo que indica que las comunidades pueden resistir estos cambios y 3) los atributos funcionales de efecto dependieron no solamente de la comunidad de HMA, sino también de los microorganismos del suelo (formación de agregados) y la planta hospedera (actividad enzimática). El siguiente paso en la investigación sobre este tema podría ser analizar estos atributos en la complejidad del campo en distintas temporadas durante el ciclo fenológico del bosque para comprobar si las respuestas y efectos se mantienen.

REFERENCIAS

- Álvarez-Yépiz J., Martínez-Yrizar A., Fredericksen T. 2018. Special Issue: Resilience of tropical dry forests to extreme disturbance events. *Forest Ecology and Management* 426, 1-6
- Anaya C., Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., García-Oliva F. 2012. Large rainfall pulses control litter decomposition in a tropical dry forest: evidence from an 8-year study. *Ecosystems* 15(4), 652-663
- Ayala-Orozco B., Gavito M., Mora F., Siddique I., Balvanera P., Jaramillo V., Cotler H., Romero-Duque L., Martínez-Meyer E. 2017. Resilience of Soil Properties to Land-Use Change in a Tropical Dry Forest Ecosystem. *Land Degradation and Development* doi: 10.1002/ldr.2686
- Bahram M., Kohout P., Anslan S., Harend H., Abarenkov K., Tedersoo L. 2016. Stochastic distribution of small soil eukaryotes resulting from high dispersal and drift in a local environment. *The ISME Journal* 10, 885-896.
- Balvanera P., Pfisterer A., Buchmann N., Nakashizuka T., Raffaelli D., Schmid B. 2006. Quantifying the evidence for biodiversity effects on ecosystem functioning and services. *Ecology letters* 9(10), 1146 – 1156.
- Banda K., Delgado-Salinas A., Dexter K., Linares-Palomino R., Oliveira-Filho A., Prado D., Weintritt J., et al. (2016). Plant diversity patterns in neotropical dry forests and their conservation implications. *Science* 353(6306), 1383-1387
- Bardgett R., Mommer L., De Vries F. 2014. Going underground: root traits as drivers of ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution* 29(12), 692-699
- Bardgett R., van der Putten W. 2014. Belowground biodiversity and ecosystem functioning. *Nature* 515(7528), 505
- Bronick C., Lal R. 2005. Soil structure and management: a review. *Geoderma* 124, 3-22
- Brown S., Lugo A. 1990. Tropical secondary forests. *Journal of tropical ecology* 6(1), 1-32
- Burgos A., Maass J. 2004. Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of Western Mexico. *Agriculture, ecosystems & environment* 104(3), 475-481.
- Caruso T., Rillig M. 2011. Direct, positive feedbacks produce instability in models of interrelationships among soil structure, plants and arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biology and Biochemistry* 43(6), 1198-1206
- Castillo A., Magaña A., Pujadas A., Martínez L., Godínez C. 2005. Understanding the Interaction of Rural People with Ecosystems: A Case Study in a Tropical Dry Forest of Mexico. *Ecosystems* 8, 630-643. doi: 10.1007/s10021-005-0127-1
- Cavagnaro T. 2016. Soil moisture legacy effects: Impacts on soil nutrients, plants and mycorrhizal responsiveness. *Soil Biology and Biochemistry* 95, 173-179.
- Chagnon P., Bradley R., Maherali H., Klironomos J. 2013. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends in plant science* 18(9), 484-491.
- Chagnon P., Bradley R., Klironomos J. 2015. Trait-based partner selection drives mycorrhizal network assembly. *Oikos* 124(12), 1609-1616.
- Chagnon P., Rineau F., Kaiser C. 2016. Mycorrhizas across scales: a journey between genomics, global patterns of biodiversity and biogeochemistry. *New Phytologist* 209(3), 913-916.

- Chávez-Macedo D. 2014. Evaluación de la calidad del suelo en parcelas agrícolas ganaderas y sucesionales en la costa sur de Jalisco México. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Chazdon R. 2014. *Second growth: the promise of tropical forest regeneration in an age of deforestation*. University of Chicago Press
- Chazdon R., Letcher S., Van Breugel M., Martínez-Ramos M., Bongers F., Finegan B. 2007. Rates of change in tree communities of secondary Neotropical forests following major disturbances. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 362(1478), 273-289.
- CONAFOR. 2010. Análisis de la dinámica de cambio de los recursos forestales del país. En: INEGI, 2010. Informe nacional de la evaluación de los recursos forestales Mundiales.
- Cornelissen J., Lavorel S., Garnier E., Diaz S., Buchmann N., Gurvich D., Reich P., ter Steege H., Morgan H., van der Heijden M., Pausas J., Poorter H. 2003. A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide. *Australian journal of Botany*, 51(4), 335-380.
- Cotler H., Ortega-Larrocea M. 2006. Effects of land use on soil erosion in a tropical dry forest ecosystem, Chamela watershed, Mexico. *Catena* 65(2), 107-117
- Díaz S., Cabido M. 2001. Vive la difference: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in ecology & evolution* 16(11), 646-655
- Díaz S., Lavorel S., de Bello F., Quétier F., Grigulis K., Robson T. 2007. Incorporating plant functional diversity effects in ecosystem service assessments. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(52), 20684-20689.
- Dighton J. 2003. Fungi in Ecosystem Processes. Vol 17, *Mycology*. Ed. Marcel Decker. USA 432 pp.
- Dodd J., Boddington C., Rodriguez A., Gonzalez-Chavez C., Mansur I. 2000. Mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) from different genera: form, function and detection. *Plant and soil* 226, 131-151.
- FAO. 2016. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2015 ¿Cómo están cambiando los bosques del mundo? <http://www.fao.org/3/a-i4793s.pdf>
- Finlay R. 2008. Ecological aspects of mycorrhizal symbiosis: with special emphasis on the functional diversity of interactions involving the extraradical mycelium. *Journal of experimental botany*, 59(5), 1115-1126
- Garg N., Chandel S. 2010. Arbuscular mycorrhizal networks: process and functions. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(3), 581-599
- Garnier E., Cortez J., Billès G., Navas M., Roumet C., Debussche M., Laurent G., Blanchard A., Aubry D., Bellmann A., Neill C., Toussaint J. 2004. Plant functional markers capture ecosystem properties during secondary succession. *Ecology*, 85(9), 2630-2637.
- Gross N., Robson T., Lavorel S., Albert C., Bagousse-Pinguet L., Guillemin R. 2008. Plant response traits mediate the effects of subalpine grasslands on soil moisture. *New Phytologist*, 180(3), 652-662
- Hawkes C., Keitt T. 2015. Resilience vs. historical contingency in microbial responses to environmental change. *Ecology letters*, 18(7), 612-625

- Hodgson D., McDonald J., Hosken D. 2015. What do you mean, 'resilient'? *Trends in ecology & evolution* 30(9), 503-506
- Holling C. 1973. Resilience and stability of ecological systems. *Annual review of ecology and systematics* 4(1), 1-23
- Jaramillo V., Kauffman J., Rentería-Rodríguez L., Cummings D., Ellingson L. 2003. Biomass, carbon, and nitrogen pools in Mexican tropical dry forest landscapes. *Ecosystems* 6(7), 609-629
- Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., Maass M., Nava-Mendoza M., Castañeda-Gómez L., Ahedo-Hernández R., Araiza S., Verduzco A. 2018. Hurricane impact on biogeochemical processes in a tropical dry forest in western Mexico. *Forest Ecology and Management*, 426, 72-80
- Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., Sanford Jr R. 2011. Primary productivity and biogeochemistry of seasonally dry tropical forests. In: *Seasonally dry tropical forests* (pp. 109-128). Island Press/Center for Resource Economics.
- Johnson N. 2010. Resource stoichiometry elucidates the structure and function of arbuscular mycorrhizas across scales. *New Phytologist* 185(3), 631-647
- Johnson N., Gehring C. 2007. Mycorrhizas: symbiotic mediators of rhizosphere and ecosystem processes. En: Cardon Z., Whitbeck J. (Eds). *The rhizosphere: an ecological perspective*. Elsevier Pp. 73-100
- Johnson N., Hoeksema J., Bever J., Chaudhary B., Gehring C., Klironomos J., Koide R., Miller M., Moore J., Moutoglis P., Schwartz M., Simard S., Swenson W., Unbanhowar J., Wilson G., Zabinski C. 2006. From Lilliput to Brobdingnag: Extending models of mycorrhizal function across scales. *BioScience* 56(11), 889-900
- Kattge J., Diaz S., Lavorel S., Prentice I., Leadley P., Bönisch G., Garnier G., Westoby M., Reich P., Wright I., et al. 2011. TRY—a global database of plant traits. *Global change biology*, 17(9), 2905-2935
- Kelly J. 2013. *La evolución de Calpurnia Tate* (Vol. 1). Ed. Rocabolsillo. México
- Koide R. 2000. Functional complementarity in the arbuscular mycorrhizal symbiosis. *The New Phytologist*, 147(2), 233-235.
- Koide R., Fernandez C., Malcolm G. 2013. Determining place and process: functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytologist*, 201(2), 433-439 doi: 10.1111/nph.12538.
- Kramer P., Boyer J., Carlson W. 1997. Water relations of plants and soils. *Forest Science* 43(1), 151-152
- Lal R. 1997. Degradation and resilience of soils. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 352(1356), 997-1010.
- Laliberté E. 2017. Below-ground frontiers in trait-based plant ecology. *New Phytologist* 213(4), 1597-1603
- Lavorel S., Díaz S., Cornelissen J., Garnier E., Harrison S., McIntyre S., Pausas J., Pérez-Harguindeguy N., Roumet C., Urcelay C. 2007. Plant functional types: are we getting any closer to the holy grail? In: *Terrestrial ecosystems in a changing world*. Ed. PD Canadell J., Pitelka L. Pp. 149–160. Springer-Verlag: Berlin

- Lavorel S., Garnier É. 2002. Predicting changes in community composition and ecosystem functioning from plant traits: revisiting the Holy Grail. *Functional ecology* 16(5), 545-556
- Lebrija-Trejos E., Bongers F., Pérez-García E., Meave J. 2008. Successional change and resilience of a very dry tropical deciduous forest following shifting agriculture. *Biotropica* 40(4), 422-431
- Lebrija-Trejos E., Meave J., Poorter L., Pérez-García E., Bongers F. 2010b. Pathways, mechanisms and predictability of vegetation change during tropical dry forest succession. *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 12(4), 267-275
- Lebrija-Trejos E., Pérez-García E., Meave J., Bongers F., Poorter L. 2010a. Functional traits and environmental filtering drive community assembly in a species-rich tropical system. *Ecology* 91(2), 386-398.
- Lebrija-Trejos E., Pérez-García E., Meave J., Poorter L., Bongers F. 2011a. Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *Journal of Tropical Ecology* 27(5), 477-489.
- Lehmann A., Leifheit E., Rillig M. 2017. Mycorrhizas and soil Aggregation. En: Johnson N, Gehring C y Jansa J. Mycorrhizal mediation of soil, Fertility, Structure and Carbon storage. Elsevier Academic Press. Chapter 14
- Levin S., Barrett S., Aniyar S., Baumol W., Bliss C., Bolin B., Dasgupta P., Ehrlich P., Folke C., Green I., Holling C., Jansson A., Jansson B., Mäler K., Martin D., Perrings C., Sheshinski E. 1998. Resilience in natural and socioeconomic systems. *Environment and development economics* 3(2), 221-262
- Leyva R. 2013. Adaptaciones morfofisiológicas del micelio extraradical de *Rhizophagus intraradices* a condiciones contrastantes de humedad del suelo. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Tesis de Licenciatura.
- Lohbeck M. 2014. Functional ecology of tropical forest recovery. Wageningen University, Wageningen NL. PhD thesis.
- Lohbeck M., Poorter L., Lebrija-Trejos E., Martínez-Ramos M., Meave J., Paz H., Pérez-García E., Romero-Pérez E., Tauro A., Bongers F. 2013. Successional changes in functional composition contrast for dry and wet tropical forest. *Ecology*, 94(6), 1211-1216
- Maass J., Balvanera P., Castillo A., Daily G., Mooney H., Ehrlich P., Quesada M., Miranda A., Jaramillo V., García-Oliva F., Martínez-Yrizar A., Cotler H., López-Blanco J., Pérez-Jiménez A., Búrquez A., Tinoco C., Ceballos G., Barraza L., Ayala R., Sarukhan J. 2005. Ecosystem services of tropical dry forests: insights from long-term ecological and social research on the Pacific Coast of Mexico. *Ecology and society*, 10(1)
- Maass J., Burgos A. 2011. Water Dynamics at the Ecosystem Level in Tropical Dry Forests. In: Dirzo R., Young H., Mooney H., Ceballos G., (Eds). Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation. Island Press. Pp. 141-156
- Maass J., Jaramillo V., Martínez-Yrizar A., García-Oliva F., Pérez-Jiménez A., Sarukhán J. 2002. Aspectos funcionales del ecosistema de selva baja caducifolia en Chamela, Jalisco. En: *Historia natural de Chamela* Pp. 525-542
- Maass M., Ahedo-Hernández R., Araiza S., Verduzco A., Martínez-Yrizar A., Jaramillo V., Parker G., Pascual F., García-Méndez G., Sarukhán J. 2018. Long-term (33 years) rainfall and runoff dynamics in a tropical dry forest ecosystem in western Mexico: Management implications under extreme hydrometeorological events. *Forest Ecology and Management*, 426, 7-17

- Magaña B. 2005. Patrones sucesionales de composición y estructura de la comunidad regenerativa del Bosque Tropical Caducifolio en Chamela, Jalisco. Undergrade Thesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Maherali H., Klironomos J. 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316, 1746-1748.
- Martínez-Ramos M. 2008. Grupos funcionales. *Capital natural de México* 1, 365-412
- Martínez-Ramos M., Barraza L., Balvanera P. 2012. Manejo de bosques tropicales: bases científicas para la conservación, restauración y aprovechamiento de ecosistemas en paisajes rurales. *Investigación ambiental Ciencia y política pública* 4(2)
- Martínez-Yrizar A., Bullock S., Mooney H., Medina E. 1995. Seasonally dry tropical forests
- Martínez-Yrizar A., Jaramillo V., Maass M., Búrquez A., Parker G., Álvarez-Yépiz J., Araiza S., Verduzco A., Sarukhán J. 2018. Resilience of tropical dry forest productivity to two hurricanes of different intensity in western Mexico. *Forest Ecology and Management* 426, 72-80
- Maza-Villalobos S., Balvanera P., Martínez-Ramos M. 2011b. Early regeneration of tropical dry forest from abandoned pastures: contrasting chronosequence and dynamic approaches. *Biotropica*, 46(6), 666-675.
- Maza-Villalobos S., Lemus-Herrera C., Martínez-Ramos M. 2011a. Successional trends in soil seed banks of abandoned pastures of a Neotropical dry region. *Journal of Tropical Ecology* 27, 35-49.
- McGill B., Enquist B., Weiher E., Westoby M. 2006. Rebuilding community ecology from functional traits. *Trends in ecology & evolution* 21(4), 178-185.
- Miles L., Newton A., DeFries R., Ravilious C., May I., Blith S., Kapos V., Gordon J. 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forest. *Journal of Biogeography* 33, 491-505.
- Miller P., Kauffman J. 1998. Effects of slash and burn agriculture on species abundance and composition of a tropical deciduous forest. *Forest Ecology and Management*, 103(2), 191-201.
- Mooney H., Medina E., Bullock S. 1995. Neotropical deciduous forests. *New York. Academic press*
- Mora-Ardila F., Martínez-Ramos M., Ibarra-Manríquez G., Pérez-Jiménez A., Trilleras J., Balvanera P. 2014. Testing chronosequences through dynamic approaches: Time and site effects on tropical dry forest succession. *Biotrópica* doi:10.1111/btp.12187.
- Munkvold L., Kjølner R., Vestberg M., Rosendahl S., Jakobsen I. 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist* 164(2), 357-364
- Murphy P., Lugo A. 1986. Ecology of tropical dry forest. *Annual review of ecology and systematics* 17(1), 67-88
- Naeem S., Wright J. 2003. Disentangling biodiversity effects on ecosystem functioning: deriving solutions to a seemingly insurmountable problem. *Ecology letters* 6(6), 567-579
- Ocampo M. 2012. Dinámica de la comunidad herbácea del sotobosque de bosques tropicales secos secundarios de Jalisco. (Dynamics of the understory herbaceous community of secondary dry tropical forests of Jalisco). B. Sc. Thesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

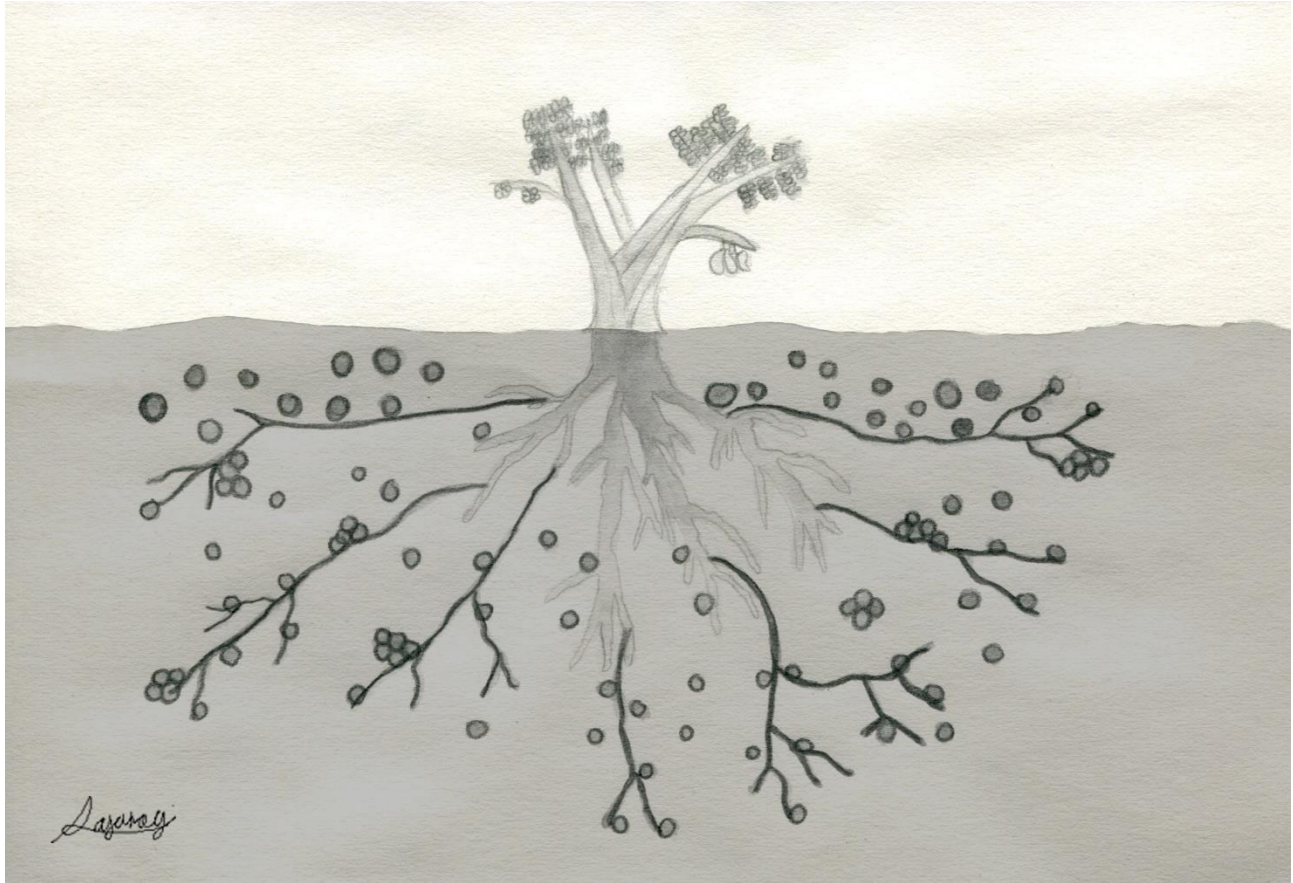
- Páramo M. 2009. Análisis temporal de los eventos de sequías cortas y su efecto en la fisiología y supervivencia de plántulas de cuatro especies arbóreas de la selva baja caducifolia. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Parker, G., Martínez-Yrizar, A., Álvarez-Yépiz, J. C., Maass, M., & Araiza, S. (2018). Effects of hurricane disturbance on a tropical dry forest canopy in western Mexico. *Forest Ecology and Management*, 426, 39-52
- Perez-Harguindeguy N., Diaz S., Garnier E., Lavorel S., Poorter H., Jaureguiberry P., Bret-Harte M., Cornwell W., Craine J., Gurvich D., Urcelay C., Veneklaas E., Reich P., Poorter L., et al. 2013. New handbook for standardised measurement of plant functional traits worldwide. *Australian Journal of botany* 61(3), 167-234
- Petchey O., Gaston K. 2006. Functional diversity: back to basics and looking forward. *Ecology letters* 9(6), 741-758
- Pineda-García F., Paz H., Meinzer F. 2013. Drought resistance in early and late secondary successional species from a tropical dry forest: the interplay between xylem resistance to embolism, sapwood water storage and leaf shedding. *Plant, Cell & Environment* 36(2), 405-418
- Portillo-Quintero C., Sánchez-Azofeifa G. 2010. Extent and conservation of tropical dry forests in the Americas. *Biological Conservation* 143(1), 144-155
- Powell J., Rillig M. 2018. Biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem function. *New Phytologist* <https://doi.org/10.1111/nph.15119>
- Powers J., Becklund K., Gei M., Iyengar S., Meyer R., O'Connell C., Schilling E., Smith C., Waring B., Werden L. 2015. Nutrient addition effects on tropical dry forests: a mini-review from microbial to ecosystem scales. *Frontiers in Earth Science* 3, 34 <https://doi.org/10.3389/feart.2015.00034>
- Powers J., Becknell J., Irving J., Perez-Aviles D. 2009. Diversity and structure of regenerating tropical dry forests in Costa Rica: Geographic patterns and environmental drivers. *Forest Ecology and Management* 258(6), 959-970
- Powers J., Montgomery R., Adair E., Brearley F., DeWalt S., Castanho C., González-Iturbe J., et al. 2009. Decomposition in tropical forests: a pan-tropical study of the effects of litter type, litter placement and mesofaunal exclusion across a precipitation gradient. *Journal of Ecology*, 97(4), 801-811
- Quesada M., Sánchez-Azofeifa G., Álvarez-Añorve M., Stoner K., Ávila-Cabadilla L., Calvo-Alvarado J., Castillo A., Espírito-Santo M., Fagundes M., Fernandes G., Gamon J., Lopezaraiza-Mikel M., Lawrence D., Cerdeira L., Powers J., Neves F., Rosas-Guerrero V., Savage R., Sánchez-Montoya G. 2009. Succession and management of tropical dry forests in the Americas Review and new perspectives. *Forest Ecology & Management* 258, 1014-1024.
- Rillig M., Mummey D. 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytologist* 171, 41-53.
- Romero-Duque L., Jaramillo V., Pérez-Jiménez A. 2007. Structure and diversity of secondary tropical dry forests in Mexico, differing in their prior land-use history. *Forest Ecology and Management* 253(1-3), 38-47
- Sagan D. 2012. Lynn Margulis, vida y legado de una científica rebelde. Colección Metatemas. Ed. Tusquets editores, México

- Sánchez-Azofeifa G., Quesada M., Rodríguez J., Nassar J., Stoner K., Castillo A., Fajardo L. 2005. Research priorities for neotropical dry forests. *Biotropica* 37(4), 477-485
- Sandoval-Pérez A., Gavito M., García-Oliva F., Jaramillo V. 2009. Carbon, nitrogen, phosphorus and enzymatic activity under different land uses in a tropical, dry ecosystem. *Soil use and management* 25(4), 419-426
- Sapijanskas J., Loreau M. 2010. Cascading extinctions, functional complementarity, and selection in two-trophic-level model communities: a trait-based mechanistic approach. *Journal of theoretical biology* 267(3), 375-387
- Smith S., Read D. 2008. Mycorrhizal Symbiosis, 3^{ed}. Academic Press, London.
- Suding K., Goldstein L. 2008. Testing the Holy Grail framework: using functional traits to predict ecosystem change. *New Phytologist* 180(3), 559-562
- Suding K., Lavorel S., Chapin F., Cornelissen J., Diaz S., Garnier E., Golberg D., Hooper D., Jackson S., Navas M. 2008. Scaling environmental change through the community-level: a trait-based response-and-effect framework for plants. *Global Change Biology* 14(5), 1125-1140
- Traven B. 1991. El visitante nocturno: Historias del campo mexicano. Colección: A la orilla del viento. Fondo de Cultura Económica, México.
- Trejo I., Dirzo R. 2000. Deforestation of seasonally dry tropical forest: a national and local analysis in Mexico. *Biological conservation* 94(2), 133-142
- Treseder K., Lennon J. 2015. Fungal traits that drive ecosystem dynamics on land. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 79(2), 243-262
- Trilleras J. 2008. Análisis socio-ecológico del manejo, degradación y restauración del bosque tropical seco de la región de Chamela-Cuixmala, México. *Universidad Nacional Autónoma de México, México*
- Trilleras J., Jaramillo V., Vega E., Balvanera P. 2015. Effects of livestock management on the supply of ecosystem services in pastures in a tropical dry región of western Mexico. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 211, 133-144.
- Van der Heijden M. 2002. Arbuscular Mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: In search for underlying mechanisms and general principles. In: van der Heijden M., Sanders I. (Eds). *Mycorrhizal ecology. Ecological studies* 157. Springer. Germany 469 pp.
- Van der Heijden M., Klironomos J., Ursic M., Moutoglou P., Streitwolf-Engel R., Boller T., Wiemken A., Sanders I. 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72
- Van Der Heijden M., Scheublin T. 2007. Functional traits in mycorrhizal ecology: their use for predicting the impact of arbuscular mycorrhizal fungal communities on plant growth and ecosystem functioning. *New Phytologist*, 174(2), 244-250
- Varela-Cervero S., López-García A., Barea J., Azcón-Aguilar C. 2016. Differences in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities promoted by different propagule forms from a Mediterranean shrubland. *Mycorrhiza* 26(5), 489-496
- Violle C., Navas M., Vile D., Kazakou E., Fortunel C., Hummel I., Garnier E. 2007. Let the concept of trait be functional! *Oikos*, 116(5), 882-892.

Williams M., Rice C. 2007. Seven years of enhanced water availability influences the physiological, structural, and functional attributes of a soil microbial community. *Applied Soil Ecology* 35(3), 535-545

ANEXO 1.

Sobretiro del artículo requisito





Arbuscular mycorrhizal fungal spore communities of a tropical dry forest ecosystem show resilience to land-use change



Silvia Margarita Carrillo-Saucedo^a, Mayra E. Gavito^{a,*}, Ilyas Siddique^{a,b}

^a Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Morelia, Michoacán, Mexico

^b Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Santa Catarina, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 30 July 2016

Received in revised form

3 September 2017

Accepted 13 November 2017

Corresponding Editor: Prof. L. Boddy

Keywords:

Composition

Diversity

Glomeromycotina

Pasture

Richness

Soil

Succession

Resilience

ABSTRACT

We explored the resilience of arbuscular mycorrhizal fungal (AMF) communities of a tropical dry forest ecosystem to land use as pastures. We compared spore community species richness, composition, abundance, and similarity between old-growth forests and active pastures, as a measure of resistance and examined the trajectory of change in successional fields when pasture use stopped to evaluate recovery. Despite a few changes in species richness, community composition and structure were strikingly similar in all sites, including the active pastures. The spore communities were considered resistant to land use as pastures and showed minor changes along succession when management stopped. We found a significant negative relation between the frequency of Diversisporales and Glomerales indicating a selective species turnover driven mainly by the families Gigasporaceae and Glomeraceae. This was, however, unrelated to land use or successional time. These results suggest the AMF communities of this ecosystem seem resilient to management as pastures.

© 2017 Elsevier Ltd and British Mycological Society. All rights reserved.

1. Introduction

Tropical dry forests are among the most threatened ecosystems in the world and have lost at least 60% of their original cover as a consequence of conversion to agriculture and pastures (Miles et al., 2006). Conversion and management usually alter soil (García-Oliva et al., 1999, 2002; Cotler and Ortega-Larrocea, 2006; Sandoval-Pérez et al., 2009), vegetation (Mora et al., 2014; Trilleras et al., 2015), and environmental conditions (Lebrija-Trejos et al., 2011; Pinzón-Pérez, 2013), at least temporarily. Plant productivity usually starts to decline after some years of management and eventually leads to land abandonment and secondary succession in the abandoned fields (Burgos and Maass, 2004). As a result, the landscape turns into a mosaic of fields containing active agriculture and pastures, secondary vegetation of different ages, and primary vegetation (Gavito et al., 2008).

Resilience is the capacity of an ecosystem, or its components, functions or processes, to withstand disturbance by resisting, reorganizing while undergoing change and recovering, so as to retain essentially the same function, structure, identity, and feedback (Holling, 1973). The components or properties of an ecosystem are resilient when they are resistant to a change in their environment or when they are altered but recover when this change ends. Both, resistance and recovery are complementary measures of resilience that can be assessed with analytical tools (Hodgson et al., 2015). Species richness and composition of some plant and animal communities in tropical dry forest ecosystems were not altered by land conversion and management while others changed but showed a return to pre-conversion levels, usually within a few decades, through natural regeneration in abandoned fields (Lebrija-Trejos et al., 2008; Maza-Villalobos et al., 2011a,b; Villa-Galaviz et al., 2012; Mora et al., 2014; Suazo-Ortuño et al., 2015). Those studies based on land-cover comparisons suggested an overall resilience of different organisms to the changes originated by land-use change and management practices. A recent resilience assessment made for vegetation and soil properties (Ayala-Orozco et al., 2017) showed

* Corresponding author. Instituto de Investigaciones en Ecosistemas y Sustentabilidad, Universidad Nacional Autónoma de México, Antigua Carretera a Pátzcuaro No. 8701, Col. San José de la Huerta, C.P. 58190, Morelia, Michoacán, Mexico.

E-mail address: mgavito@cico.unam.mx (M.E. Gavito).

indeed that the majority were resilient to land-use change. The resilience of communities of soil organisms, however, has been poorly studied in this highly dynamic process of continuous environmental transformation (Falconer et al., 2015).

The Glomeromycotina are soil fungi of special interest because of their symbiotic interaction with the majority of plants (Schüßler et al., 2001) and their influence on plant nutrition (Jakobsen, 1998), plant diversity (Van der Heijden, 2002), nutrient cycling and soil structure (Rillig and Mummey, 2006). Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) distribution, development and survival are influenced by environmental factors such as fertility, humidity, compaction, and temperature in soil, as well as topography, altitude and latitude (Camargo-Ricalde, 2002). Additionally, there are also important biotic factors such as host compatibility and dispersal capability (Smith and Read, 2008). AMF community composition is redefined continuously in response to the environment and functional characteristics of the species present (Kivlin et al., 2011).

Land-use change and land management are drivers of environmental changes that may lead to new species arrangements in AMF communities, depending on the type, intensity and duration of the environmental alterations and on the AMF species functional traits (Koide et al., 2013). AMF exhibit functional traits like the proportion of mycelium development inside and outside the roots, or P transfer capacity to plants, which seem to be preserved at the family level (Hart and Reader, 2002). Understanding the changes in community composition may help to predict what species will stay or disappear after an environmental change (Xiang et al., 2014) and the consequences of the departure or arrival of species on the functions AMF perform in ecosystems (Maherali and Klironomos, 2007).

Despite the importance of AMF for ecosystem functioning (Johnson et al., 2006), the resilience of AMF communities to recurrent and long-term disturbance pressure, such as land-use change, is still unknown. Several studies have documented changes in AMF communities under various land covers resulting from land-use change in temperate (Lumini et al., 2010; Oehl et al., 2010; Cortés-González et al., 2012) and tropical (Gavito et al., 2008; Stürmer and Siqueira, 2011; Pereira et al., 2014) ecosystems. Although comparison of land cover may give some indications of resilience, no study to our knowledge has explicitly explored the resilience of AMF communities to land-use change and pasture management in tropical dry forests.

This study evaluated the resilience of AMF spore communities to land-use change by examining the resistance of undisturbed tropical dry forest communities to pasture management and their recovery through successional time after management stopped. We: (1) characterized the structure and composition of AMF in a group of sites including active pastures, successional fields of different ages and old-growth forests; (2) compared AMF spore community species richness, composition, abundance, and similarity between old-growth forests and active pastures, as a measure of resistance to land conversion and pasture management, and examined the trajectory of change in successional fields to evaluate recovery after pasture management; and (3) explored if differences in soil and environmental properties were associated with differences in AMF community composition in the land covers examined. We hypothesized that AMF communities of this ecosystem would be resilient to land-use change mainly due to a rapid recovery after management ceased. We expected that, given the significant alterations in plant communities during pasture management, AMF communities would not be resistant to this land-use change but would recover rapidly as has been shown for soil properties and plant and animal communities of this tropical dry forest ecosystem when management stops.

2. Materials and methods

The study area is located on the Pacific coast (Fig. 1) in the state of Jalisco, in Mexico (19°29' N, 105°01' W). This is a tropical dry forest ecosystem with a mean annual temperature of 25 °C and mean annual rainfall of 746 mm concentrated between June and October (García-Oliva et al., 2002). Soils of the region are usually Regosols and characterized as poorly developed and shallow (Cotler et al., 2002).

We used a group of sites that included two active pastures with more than 15 y under this land use, six sites with secondary vegetation of different successional age ranging from 6 to 34 yr, and two old-growth forests (OGFs) to analyze AMF community changes. In the absence of data documenting the dynamic changes of AMF composition in fields undergoing the entire process: primary forest → land conversion → pasture management → land abandonment → succession, we used a space-for-time approach (Quesada et al., 2009). This allowed us to compare the changes sequentially in time using fields that at the time of measurement were in different stages of the process. OGFs were located within the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve and pastures and successional plots outside the reserve. OGFs were well preserved in this region until they were converted to agriculture and pasture use in the 1970s and 1980s as a result of a governmental program of land distribution. For this reason, all pasture and successional sites have management histories shorter than 40 yr (Table 1). Pastures are under low-input management, with no tillage, herbicides, or fertilizers, but with intense grazing and frequent burning to control invasion of other plants and boost grass development. When productivity decays and pastures are abandoned, disturbance is more infrequent, usually as coppicing and occasional grazing (Trilleras et al., 2015). We gathered the most homogeneous set of sites as possible considering that both the landscape and the management histories are highly diverse.

All sites were located on independent hillsides (Fig. 1). Only two sites, the OGFs, are 300 m apart; the rest of the sites are separated by at least 1 km to reduce spatial confounding effects. Soil samples were taken in November 2011, 1 month after the last rain of that year, in 15 × 10 m plots marked along the slope. The beginning of the dry season is a good time for sampling because AMF sporulation peaks and spores have not undergone severe desiccation or attack by other organisms (Gavito *pers. comm.*). The plots were divided in three 5 × 10 m sections (top, middle and low) and five sampling points were marked with a minimum of 1.5 m spacing, within each section. Soil was sampled from 0 to 10 cm depth of the mineral soil, by inserting a shovel as uniformly as possible considering the abundance of rocks and pebbles and soil compaction in most sites. At the same time we measured soil temperature at 10-cm depth besides each sampling point by inserting the metal probe of an oven thermometer. The five samples of approximately 500 g from each section were kept separate (15 samples per site) and sealed in plastic bags until processing. In the lab a subsample of each soil sample was weighed fresh as soon as possible and moisture content was determined by weight difference after oven-drying to constant weight. The rest of the soil sample was refrigerated at 4 °C and processed for AMF spore extraction and identification within 8 months.

Soil properties were measured in a separate study performed 1 yr before our sampling in the same plots and with the same sampling strategy. Soil properties were measured from one composite sample for each section obtained by mixing thoroughly a subsample from the five samples collected. Bulk density samples were taken from one random sampling point in each section of the slope using intact cores taken with a 6-cm diameter PVC cylinder. The core was stored in a sealed plastic bag until processing in the

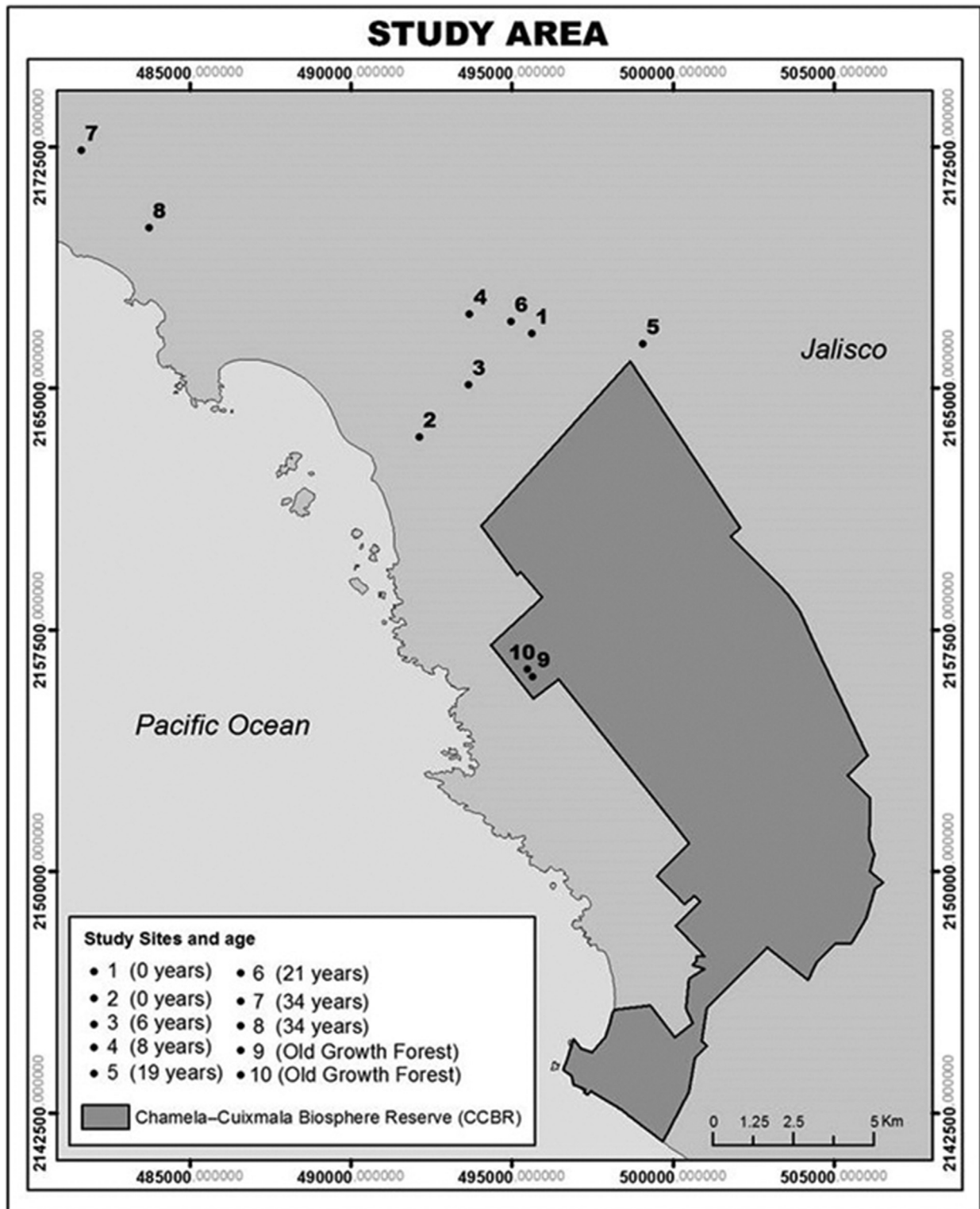


Fig. 1. Map showing the location of the study sites (black dots) and the Chamela-Cuixmala Biosphere Reserve (dark gray polygon).

lab. Fresh weight was measured and the soil was oven-dried until reaching constant weight. Soil pH (1:5 in water), available P (Murphy and Riley, 1962; Mehlich, 1984), C (Total Carbon Analyzer, UIC 1995), NO_3 and NH_4 (KCl extraction, Robertson et al., 1999, and phenolphthalein method, Technicon Industrial Systems, 1977) were measured in all composite samples.

Spores were extracted from 50-g soil subsamples by soaking in 1000 ml water with 1% hydrogen peroxide for 30 min, shaking with a spoon and decanting through a series of sieves with decreasing opening (Gerdeemann and Nicolson, 1963). The fraction remaining between the 0.5 mm and 0.02 mm sieves was collected and centrifuged in water for 1 min at 448 g. After decanting, the pellet

Table 1
Characteristics and history of use of the study sites in Chamela, Jalisco.

Successional Age (y)	Sites (map)	Land cover	Latitude and longitude	Method used for conversion	Current or past use	Vegetation	Vegetation richness	
							W	H
0	1	Active Pasture	19° 35' 43.00" 105° 02' 31.28"	Slash and burn	Maize for 2 years and active pasture for 15 years.	Canopy dominated by climbing species, herbaceous species and grasses, with some native trees and shrubs (15%).	10 to 15	20 to 32
0	2	Active Pasture	19° 33' 58.28" 105° 04' 30.61"	Slash and burn	Maize for 2 years and active pasture for 34 years.			
6	3	Early regeneration	19° 34' 51.20" 105° 03' 38.20"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.		15 to 24	22 to 30
8	4	Early regeneration	19° 36' 02.50" 105° 03' 37.30"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.	Canopy dominated by climbing species, grasses and other herbs. 20% are trees and shrubs, mostly juveniles.		
19	5	Intermediate regeneration	19° 35' 32.80" 105° 00' 32.70"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.		25 to 30	25 to 32
21	6	Intermediate regeneration	19° 35' 55.20" 105° 02' 53.50"	Slash and burn	Previously maize and then pasture.			
34	7	Late regeneration	19° 38' 47.73" 105° 10' 31.13"	Bulldozer slash	Pasture for 6 years.	Canopy dominated by woody plants, trees and some herbs	46	ND
34	8	Late regeneration	19° 37' 29.30" 105° 09' 18.70"	Bulldozer slash	Pasture for 6 years.			
U	9	Old Growth Forest	19° 29' 56.20" 105° 02' 29.80"	Natural Reserve	Primary Forest		23 to 27	22 to 27
U	10	Old Growth Forest	19° 30' 3.70" 105° 02' 35.30"	Natural Reserve	Primary Forest			

U=Unknown, W= Woody in 0.1 ha, H= Herbaceous in 1 m². Vegetation richness data from: Trilleras et al., 2015, Maza-Villalobos et al., 2011a,b, Mora et al., 2014, Romero-Duque et al., 2007 and Ocampo 2012.

was suspended in 50% sucrose and centrifuged for 2 min at 448 g. After decanting through a 20- μ m sieve, the spores were washed in water. Spores were collected and separated in Petri dishes using a stereomicroscope for their identification. Morphotypes were separated into two groups trying to include spores of all types in each. The two groups were mounted on slides with polyvinyl alcohol with and without Melzer's reagent, to examine spore-wall reactions for taxonomic identification (Koske and Tessier, 1983). Morphotypes were identified whenever possible using species descriptions and materials from specialized websites: International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (<http://invam.caf.wvu.edu/>), Blaszkowski (<http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>), Schüßler and Walker (<http://schuessler.uwe.mwn.de/amphylo/>) following the classification proposed by Redecker et al. (2013). AMF-resembling morphotypes not matching a described species were assigned to the closest family or genus. Morphotypes with less than 5 spores in the set of samples and spores with damaged walls were not included in the study.

Species richness was the sum of different spore morphotypes. The frequency of occurrence of each species was calculated based on presence/absence of the species in a sample. Frequency is the percentage of samples where the species was present from the total samples (15), and was an estimator of abundance (Magurran, 2004) of AMF morphotypes. Frequency of occurrence $\geq 50\%$ was considered as a dominant, $\leq 30\text{--}50\%$ as a very common, $\leq 10\text{--}30\%$ as a common, and $\leq 10\%$ as a rare species (Zhang et al., 2004). AMF diversity was assessed with Shannon H' index using the frequency of occurrence explained above and evenness was obtained by dividing H' by the log of the number of taxa (Pielou). Species accumulation curves, Shannon, Pielou, Chao2 richness estimator and sampling completion were calculated for each site using EstimateS 9.1.0.

Dominance patterns of families in the AMF communities were examined with Whittaker diagrams of frequency distributions in each site. Community similarity was compared using Sorensen's indexes based on species presence/absence and the number of species shared (Koleff et al., 2003). We explored the groupings and similarities among AMF communities with a Hierarchical Cluster Analysis ordering species according to their taxonomical distance, presence/absence and frequency of occurrence. These analyses were performed with betadiver and treedive functions of package

vegan 2.3–5 (Oksanen et al., 2016) in R 3.2.5 (R Core Team, 2015).

We assessed resistance to, and recovery from, land-use change for three AMF diversity measures: species richness and the Shannon and Pielou indexes. Resistance of the AMF communities to pasture use was tested with generalized linear mixed models where the two land covers (old growth forest and active pasture) were a fixed factor and site was included as a random factor in the intercept of the model. Recovery of the AMF communities from pasture use was also tested with a generalized linear mixed model where all land covers, excluding old-growth forests, were a fixed factor, with four levels: pasture, and early, intermediate and late successional, and site was included as a random factor in the intercept of the model. Evenness was logit transformed following Warton and Hui (2011). A normal error distribution was set for diversity and evenness and a Poisson distribution was set for richness. Visual inspection of models' residuals was done to assess homogeneity of variances assumption and the presence of outliers following Zuur et al. (2010). We used regression analysis to test if the shape of the line suggested a return to pre-conversion values. The age of the OGFs is unknown; therefore the regression included only the active pastures (age zero) and the successional fields. OGF values are shown separately just for comparison. Additionally we performed correlation tests between the relative frequencies of the orders, families and genera retrieved as morphotypes along the successional gradient to explore if there was a similar trend of change in the AMF communities. Finally, we performed a Canonical Correspondence Analysis to test the relationship between AMF composition and environmental conditions. We used the standardized mean values obtained for the three slope positions from each site for this analysis since soil properties were determined from samples composited per slope position. The CCA was performed with the functions decostand, cca and plot.cca of the Vegan package in R 3.2.3 (R Core Team, 2015).

3. Results

We identified 45 morphotypes (Table S1), with predominance of the Glomerales (25) and Diversisporales (19), and only one in the Archaeosporales order. From these, 24 morphotypes belonged to a single family, Glomeraceae. Species accumulation curves showed a

completeness between 59% and 94%. (Fig. S1).

The dominant species in all communities were *Rhizophagus aff. fasciculatum* and *Funneliformis geosporum*. *Rhizophagus clarus*, *Claroideoglossum claroideum*, *Gigaspora ramisporophora* and *Acaulospora scrobiculata* were very common species. Community structure was dominated by Glomeraceae and was strikingly similar in all sites (Figs. 2 and 3). The communities shared between 62 and 86% of their species (Table 2); most of the species not shared were either common or rare, but the composition of families was preserved (Fig. 2).

The cluster analysis separated three groups: the first was comprised by the old-growth forests, one 34-yr succession and one pasture, the second by a 34-yr, 19-yr, and 8-yr successional fields and one pasture, and the third by a 6-yr and a 2-yr successional fields. Despite some predominant association of old sites in the first group and successional fields in the second group, there were some inconsistencies, a pasture was included in the “mature group” and a late-successional community in the “early-intermediate group” (Fig. 2).

Average species richness (25.4 ± 3.3), and community diversity (2.8 ± 0.17), evenness (0.89 ± 0.02), and similarity (62–86%), were also very similar for all sites (Fig. 4). From these variables, we observed a significant statistical difference only in Shannon (H') diversity index (Table 3), which was 2.9 in active pastures versus 2.5 in old-growth forests ($p = 0.01$), but this difference is too low to have ecological significance. The regressions to evaluate temporal trends along successional time suggesting recovery showed a straight line with slope not different from zero (Fig. 4) and the mixed models showed also no differences between land covers (Table 3).

Additionally, there was no significant relationship between the frequency of occurrence and successional time at the family and order levels (Fig. 5A, C). There was, however, an opposite relationship between the frequency of occurrence of the Diversisporales and Glomerales ($r = -0.99$, $p = 0.001$, Fig. 5B), which is largely explained by the frequencies of two families, Glomeraceae and Gigasporaceae ($r = -0.73$, $p = 0.001$, Fig. 4D). The Glomerales, and within them the Glomeraceae, dominated all sites with an average

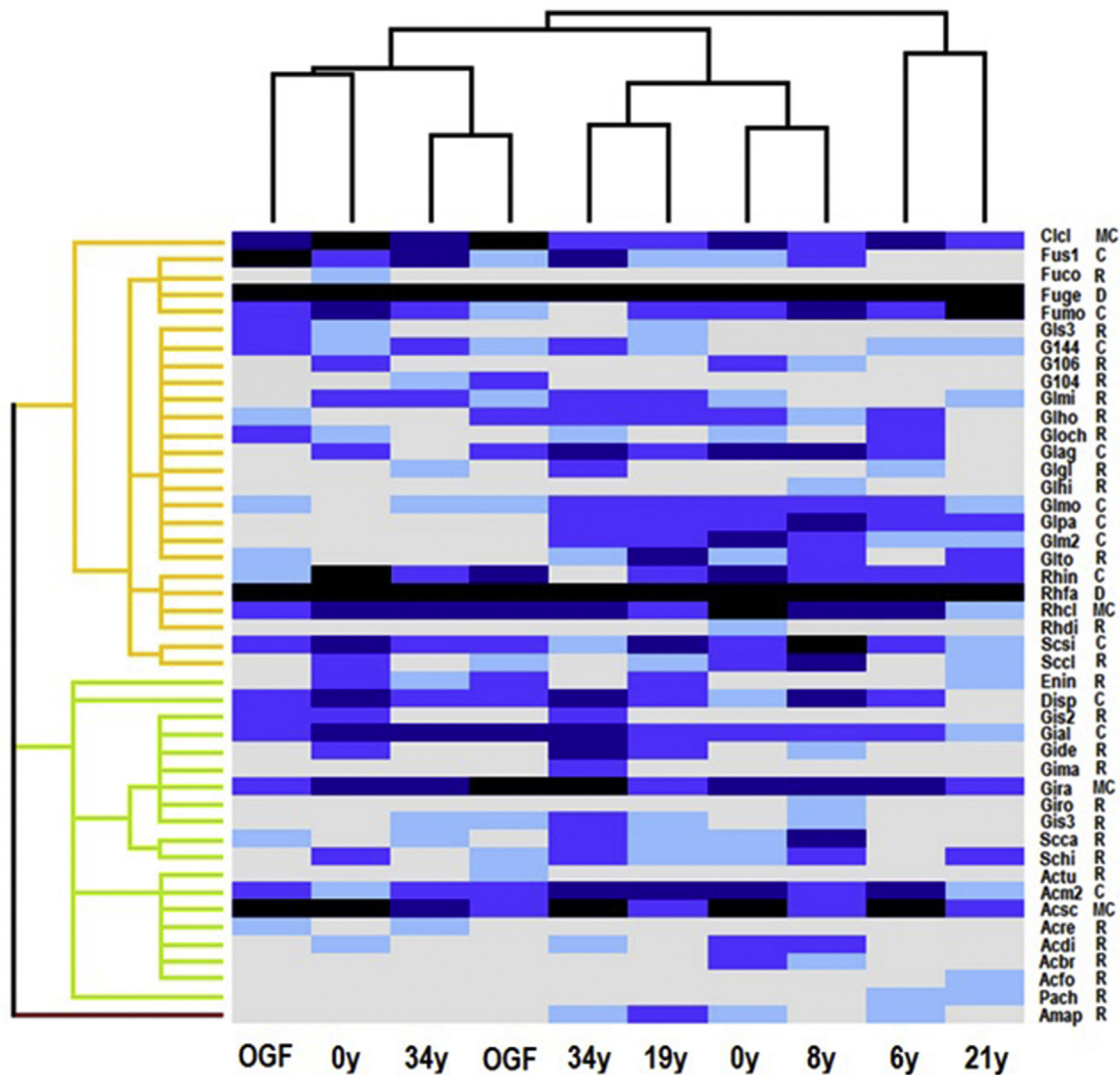


Fig. 2. Hierarchical cluster. Heat map values reflect the occurrence frequency of each species in each site. Black = Dominant (D) species (>50%), dark blue = Most Common (MC) species (30–50%), intense blue = Common (C) species (10–30%), light blue = Rare (R) species (<10%), gray = 0%, species not present. The top tree shows species shared between sites. The left tree shows taxonomic diversity and color of the branches represents the order: orange = Glomerales, green = Diversisporales, and purple = Archaeosporales. The right columns show the species names' abbreviations and their dominance in all communities. y = years in succession, OGF = old growth forest.

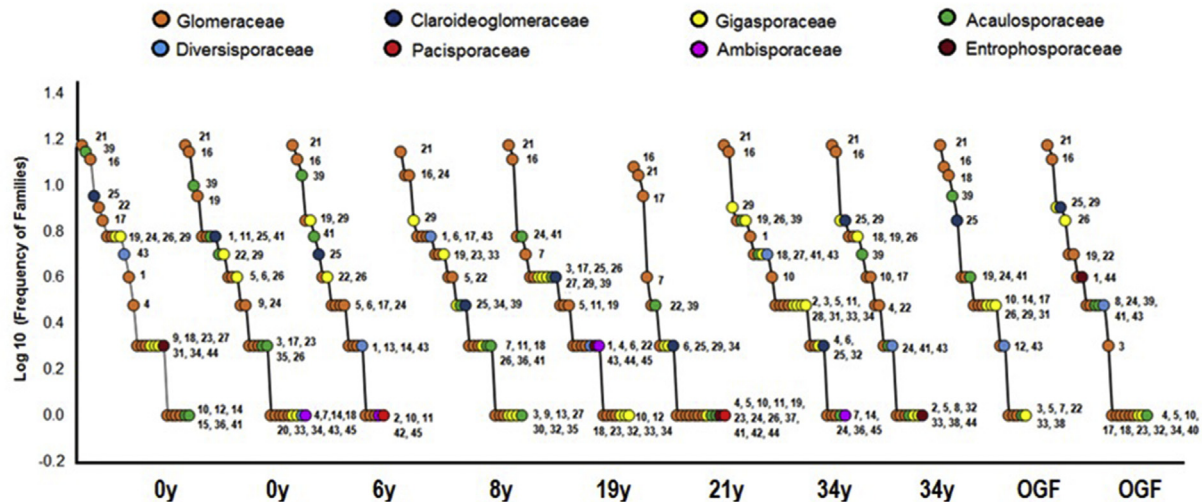


Fig. 3. Total frequency curves or Whittaker plots. The numbers represent the number of each species given in supplementary Table (S1). y = years in succession and OGF = old-growth forest.

Table 2
Similarity matrix for the composition of arbuscular mycorrhizal fungi morphotypes.

	0 y	0 y	6 y	8 y	19 y	21 y	34 y	34 y	OGF	OGF
0 y	26	0.727	0.625	0.691	0.764	0.667	0.691	0.667	0.708	0.760
0 y	20	29	0.745	0.862	0.828	0.706	0.793	0.627	0.706	0.717
6 y	15	19	22	0.667	0.745	0.727	0.745	0.682	0.727	0.696
8 y	19	25	17	29	0.828	0.667	0.759	0.627	0.667	0.717
19 y	21	24	19	24	29	0.784	0.828	0.745	0.745	0.830
21 y	16	18	16	17	20	22	0.627	0.682	0.636	0.739
34 y	19	23	19	22	24	16	29	0.667	0.706	0.679
34 y	16	16	15	16	19	15	17	22	0.773	0.826
OGF	17	18	16	17	19	14	18	17	22	0.696
OGF	19	19	16	19	22	17	18	19	16	24

Sorensen Index (above diagonal), number of shared species (below diagonal) and total number of spore morphotypes for each site (numbers in bold in diagonal). y = years and letters OGF = old growth forest.

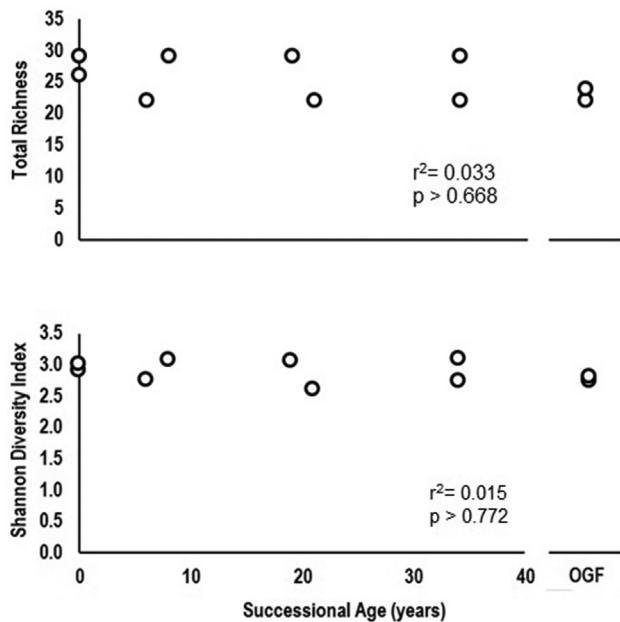


Fig. 4. Total richness and diversity as a function of the sites successional age. Richness (S) is the number of species present and diversity is measured as a Shannon Index based on frequencies for each site.

Table 3
Results of the resistance and recovery generalized linear mixed models (GLMM) tests performed with richness, diversity and evenness measures. Function refers to function used in R and data distribution in parenthesis. Akaike's Criterion (AIC) values, degrees of freedom (DF) and probability of significance of the model including the land-cover factor.

Resistance: Comparison between old growth forest and active pasture covers					
	Function	Model	AIC	DF	Pr(>Chisq)
Richness	glmer (Poisson)	Null	68.117		
	Cover		68.727	1	0.0804
Diversity (Shannon)	lmer (Normal)	Null	-16.165		
	Cover		-11.528	1	0.0147*
Evenness (Pielou)	lmer (Normal -logit)	Null	-0.718		
	Cover		6.935	1	0.6067
Recovery: Temporal trends of change from active pastures to early, intermediate and late successional age					
	Function	Model	AIC	DF	Pr(>Chisq)
Richness	glmer (Poisson)	Null	142.281		
	Cover		149.275	3	0.6221
Diversity (Shannon)	lmer (Normal)	Null	20.256		
	Cover		31.683	3	0.5594
Evenness (Pielou)	lmer (Normal -logit)	Null	-6.024		
	Cover		7.098	3	0.2473

* Significant.

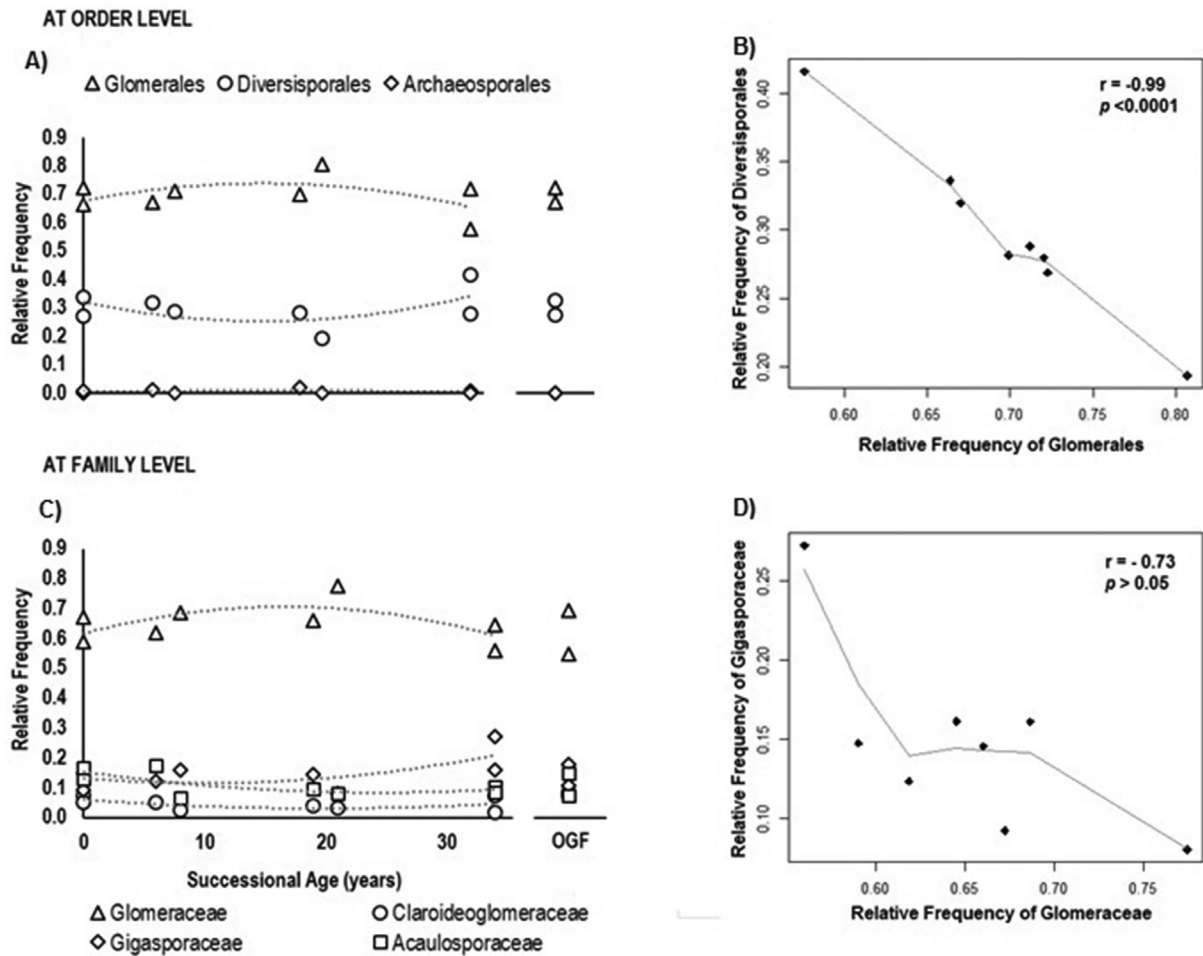


Fig. 5. Relative frequencies at different taxonomic levels in relation to the sites successional age, (A) at order level, (C) at family level. We show only the most frequent families. Correlation plots of (B) orders and (D) families that were significant based on relative frequencies.

frequency of 60–70% (Fig. 5A, C), well above the frequencies of the Diversisporales, whereas the Archaeosporales were very rare. Other families represented less than 20% of the community in all communities (Fig. 5C).

Soil and environmental properties explained only 34% of the community composition in three significant components ($F = 1.36$, $P = 0.002$). The most important properties in the first CCA component, which explained 10% of the variation, were soil ammonium and soil temperature. In the second component, also explaining 10%, the most important properties were bulk density and soil temperature. The only two properties that were significant in this analysis, however, were soil temperature ($F = 1.90$, $P = 0.001$) and ammonium content ($F = 1.86$, $P = 0.002$) (Table S2). *Gigaspora* species were the only ones more clearly associated to a specific land cover, the late regeneration (34 yr) and OGFs, and the highest soil ammonium values. *Acaulospora* species and *Entrophospora infrequens* were related to high available P and pH. The rest of the species had no distinguishable distribution pattern (Fig. 6).

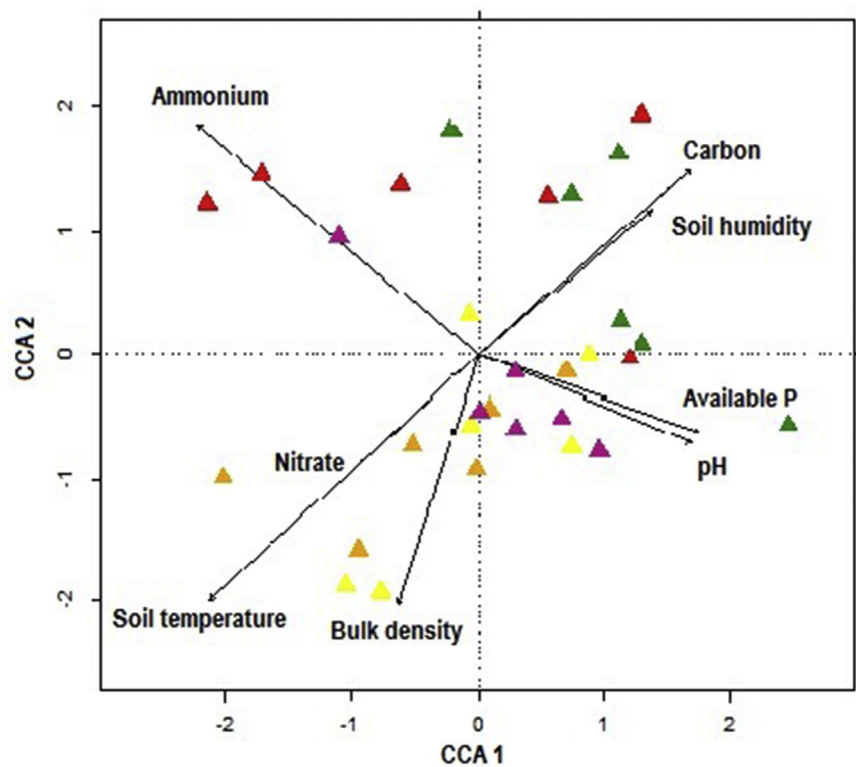
4. Discussion

We found a surprising similarity in the AMF communities of all sites from this tropical dry forest ecosystem. An analysis of their resilience to land use as pastures and of the trajectory of changes in species richness, structure and composition when natural regeneration was allowed revealed an unexpected stability.

This is, to our knowledge, the first study specifically aimed at assessing the resilience of AMF communities to land-use change and the long-term disturbance pressure of pasture management. Although numerous studies (Johnson and Wedin, 1997; Picone, 2000; Urcelay et al., 2009; Stürmer and Siqueira, 2011; da Silva et al., 2014) have investigated community differences under various land uses, land covers, or experimental treatments, that may suggest resilience, the differences between them cannot be interpreted directly as resilience or no resilience. Most studies document the resistance of communities to a given change by testing for differences before and after the change, but lack an assessment of recovery. A previous study of the spore communities in the same region comparing some of the land covers we examined here had found differences in species composition and lower community similarity (28–48%) among pasture, late successional and OGF sites (Gavito et al., 2008), which suggested AMF communities were not resilient. Our deeper analyses and the resilience tests performed in the present study suggest AMF communities are resilient.

We expected larger differences in AMF communities as a result of the drastic changes in plant communities that occur when OGFs of this region are transformed to pastures (Trilleras et al., 2015) and during the first decades of natural regeneration (Maza-Villalobos et al., 2011a; Mora et al., 2014). Those vegetation studies showed, however, that the low-input management in pastures (no tillage or fertilizer, rarely herbicides) allows a high plant diversity so that, on

A) Successional age



B) Species

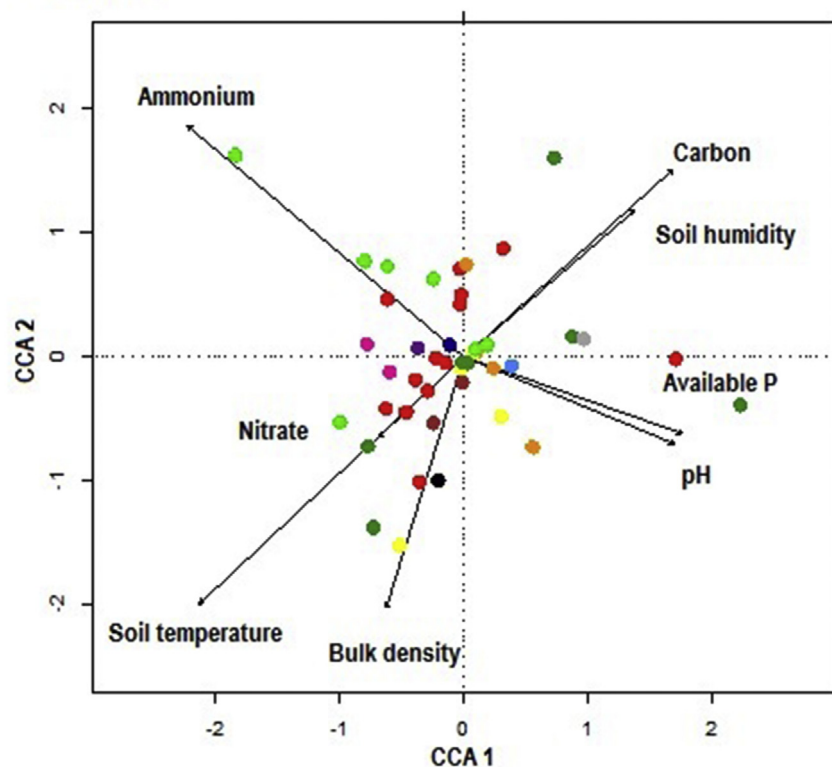


Fig. 6. Canonical Correspondence Analysis based on soil and environmental variables. (A) Successional age ordination. Diamonds show the three values (top, middle and low sections of the plot) entered for each site. Yellow = active pasture, orange = early succession, lilac = intermediate succession, red = late succession and green = primary forest. (B) Ordination by genera (circles) red = *Glomus*, orange = *Funneliformis*, yellow = *Rhizophagus*, brown = *Sclerocystis*, light blue = *Claroideoglossus*, dark green = *Acaulosporaceae*, light green = *Gigasporaceae*, pink = *Scutellospora*, dark blue = *Diversispora*, purple = *Ambispora*, black = *Pacispora* and gray = *Entrophospora*.

average, pastures still have more than half of the plant species richness (30–47 spp/ha) of old-growth forests (45–54 spp/ha) (Table 1). Plant and AMF spore species richness promote each other when there are few species of both partners present but when they exceed 10 species the relationship approaches an asymptote (Van der Heijden et al., 1998; Burrows and Pfleger, 2001). If all functional types are already represented in the plant community, the arrival of new species of the same type would not be expected to promote a change in the AMF community, as suggested by Urcelay et al. (2009). Plant species saturation in our study sites may be the reason for the lack of differences in AMF species richness despite the large difference reported for plant communities (Maza-Villalobos et al., 2011a,b; Mora et al. 2014). On the other hand, our data showed no relation between community similarity and linear distance. In our study, the two OGF sites that are only 300 m apart share 69% of their species, whereas the OGFs and late successional sites, separated by more than 20 km, share 77–82% of their species. The distance between some of our sites, even considering this a hilly landscape, may thus be not large enough to limit dispersion. Recent studies (García de León et al. 2016; Nielsen et al., 2016) suggest very high dispersal ability in AMF.

Although we examined only one snapshot of the AMF communities, using spores from soil samples allowed us to evaluate cumulative changes within these communities during the past 1–2 yr since spores may rest in soil and be recovered months/years after they were produced. Root-colonizing AMF depict the actual community establishing associations with the plants, which may be quite different from the community that can be found in soil (Hiiesalu et al., 2014; Varela-Cervero et al., 2016). AMF spore communities in soil combine a longer interaction with plant communities and environmental conditions than root communities. However spore morphotype data have the limitation of missing AMF species that were present in the communities but did not sporulate near the sampling time.

Aguiar-Fernández et al. (2009), also provided evidence for the resilience of AMF communities by documenting minimal changes even immediately after the strong disturbance imposed by the slash-and-burn process in the same region. Studies from other tropical regions with similar land-use change dynamics have reported rather small changes in AMF communities after conversion of forests to pastures (Johnson and Wedin, 1997; Picone, 2000). There are few studies in tropical zones providing diversity indexes in AMF spore communities to compare against (Cuenca et al., 1998; Stürmer and Siqueira, 2011; da Silva et al., 2014; Alves et al., 2015). The most similar study to our work (Stürmer and Siqueira, 2011) reported similar diversity values (1.84–2.94) and species richness (23–50 spp) but lower evenness (0.25–0.42). Alves et al. (2015) found low similarity (around 20%) between natural areas and areas revegetated with native plants after mining activities, which suggests that a stronger disturbance followed by a non-natural process of regeneration may cause a larger change in AMF communities than those we observed.

Despite the overall resilience in all communities, we found some evidence for selective species turnover from the negative relationship between the frequency of Glomerales and Diversisporales but this had no relation with successional time. There was only a trend for proportionally more Diversisporales in the community as succession advances. Although the Glomeraceae dominated all sites, each site contained morphotypes of at least 4–5 families. Different functional traits preserved at the family level (Hart and Reader, 2002; Voets et al., 2006; Maherali and Klironomos, 2007), and potentially giving a competitive advantage under certain conditions, might be the mechanism preventing that functionally similar and phylogenetically close taxa coexist at the small scale (Maherali and Klironomos, 2012).

The low association of AMF community composition with the environmental variables measured was expected given the large spatial variability of soil and environmental conditions amongst the sites. The placing of the communities reflected a gradual transition rather than an abrupt separation in groups, with pastures and old-growth forests as the most distant communities and successional communities in between. There was, however, a poor differentiation of the communities in general. Active pastures and early regeneration sites were related to higher soil temperature, bulk density and AMF species richness. Higher soil C, N and humidity, associated to late succession and OGF, are likely a result of increasing plant biomass and canopy closure as succession advances (Lebrija-Trejos et al., 2011; Maza-Villalobos et al., 2011a; Pinzón-Perez, 2013).

Gigaspora species were related to old-growth forests and high soil ammonium. The species related to active pastures and early regeneration sites were either sporocarpic with peridium *Sclerocystis clavisporea*, *S. sinuosa* or dark and thick-walled (*Glomus* sp. 106). The generalist species *Rhizophagus aff. fasciculatum* and *Funneliformis geosporum* were also thick-walled. Álvarez-Santiago (2002) also reported that thick-walled morphotypes were common in pastures and these features are probably related to protection from a harsh environment.

Tropical dry forest environmental conditions are extremely erratic, mainly in terms of water availability (Maass and Burgos, 2011). It has been proposed that microbial arrangements in fluctuating ecosystems are more resistant to land-use change because they are adapted to extreme variation and have higher acclimation capacity than those inhabiting more stable environments (Hawkes and Keitt, 2015). The small differences in structure and composition of the AMF communities suggest the species present have a large plasticity and acclimation capacity that may be related to the resistance to the severe and persistent disturbance imposed by grazing and burning in extensive rangeland.

The time-for-space approach we used has limitations and demands cautious interpretation, but it is a useful approach when following the dynamics in permanent plots over several decades is not feasible (Maza-Villalobos et al., 2011b). The pasture sites for example, had been under active management for 15 and 34 yr, a period long enough for the effects of pasture use to mask the effects of forest conversion by slash-and-burn. During the full time period some changes may have initiated after land conversion, some effects of conversion may have exacerbated, some may have attenuated, whereas other variables may have remained unaltered during the entire period. In this study we report the cumulative effect of conversion and pasture use at advanced pasture ages and therefore cannot differentiate the effects of specific disturbance events along the history of each site. Furthermore, there are limitations to interpreting community composition based on our low replication and on spore morphotype frequencies, because these represent an unknown proportion of the actual AMF species composition.

We conclude the AMF communities of this tropical dry forest ecosystem are resilient to the prevalent land-use change and pasture management pressures since the various approaches we used here to complement the resilience analysis suggested they were resistant. We expected the AMF communities would not resist the disturbance of pasture management, but expected they would recover. Our analyses showed that the resilience to land-use change we report here for AMF is due to resistance, and not to recovery, and is in accordance with what has been observed in several soil and vegetation properties in the same region (Ayala-Orozco et al., 2017). We consider this as good news that brings hope to conservation efforts since, either through resistance or recovery, biodiversity seems to withstand the forest conversion process followed

by long-term disturbance pressure of the prevailing extensive, low-input pasture management. If the resilience of AMF communities is confirmed in further studies, their diversity might be preserved not only in protected areas, but also in successional fields and even in managed fields with sustainable practices.

Acknowledgements

S. M. Carrillo-Saucedo thanks to Posgrado en Ciencias Biológicas at Universidad Nacional Autónoma de México for supporting her PhD studies as well as Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) for a scholarship. I.S. thanks CNPq-Brazil for a fellowship. This article is a PhD degree requirement for S.M.C.S. We wish to thank Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica de Universidad Nacional Autónoma de México (project PAPIIT-IN224010) and CONACyT projects SEP-CONACyT 2009-129740 and 2015-255544 for funding this research. Thanks to Drs. Francisco Mora Ardila, Ernesto V. Vega Peña and Felipe Barragán for their help with statistical analysis, to Maribel Nava Mendoza and Ana Lidia Sandoval Pérez for technical assistance and to M. G. Alejandra Espinoza Maya for drawing the map.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2017.11.006>.

References

- Aguilar-Fernández, M., Jaramillo, V., Varela-Fregoso, L., Gavito, M., 2009. Short-term consequences of slash and burn practices on the arbuscular mycorrhizal fungi of a tropical dry forest. *Mycorrhiza* 19 (3), 179–186.
- Álvarez-Santiago, S., 2002. Efecto de la perturbación en la interacción micorrízica vesículo-arbuscular en un ecosistema tropical estacional. (Effect of disturbance on the vesicular-arbuscular mycorrhizal interaction in a seasonal tropical ecosystem. M. Sc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Alves, D., Gomes, R., de Alencar, B., Alves, G., Oehl, F., Costa, Maia, 2015. Communities of arbuscular mycorrhizal fungi on a vegetation gradient in tropical coastal dunes. *Appl. Soil Ecol.* 96, 7–17.
- Ayala-Orozco, B., Gavito, M.E., Mora, F., Siddique, I., Balvanera, P., Jaramillo, V.J., Cotler, H., Romero-Duque, L.P., Martínez-Meyer, E., 2017. Resilience of soil properties to land-use change in a tropical dry forest ecosystem. *Land Degrad. Dev.* <https://doi.org/10.1002/ldr.2686>.
- Burgos, A., Maass, J.M., 2004. Vegetation change associated with land-use in tropical dry forest areas of western Mexico. *Agric. Ecosyst. Environ.* 104, 475–481.
- Burrows, R., Pfleger, F., 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi respond to increasing plant diversity. *Can. J. Botanical* 80, 120–130.
- Camargo-Ricalde, S., 2002. Dispersal, distribution and establishment of arbuscular mycorrhizal fungi: a review. *Bol. Soc. Botánica México* 71, 33–44.
- Cortés-González, J., Vega-Fraga, M., Varela-Fregoso, L., Martínez-Trujillo, M., Carreón-Abud, Y., Gavito, M.E., 2012. Arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) communities and land use change: the conversion of temperate forests to avocado plantations and maize fields in central Mexico. *Fungal Ecol.* 5, 16–23.
- Cotler, H., Ortega-Larrocea, M.P., 2006. Effects of land use on soil erosion in a tropical dry forest ecosystem, Chamela watershed, Mexico. *Catena* 65, 107–117.
- Cotler, H., Durán, E., Siebe, C., 2002. Caracterización morfo-edafológica y calidad de sitio de un bosque tropical caducifolio. In: Noguera, F., Vega, J., García, A., Quesada, M. (Eds.), *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. D.F. 17–79.
- Cuenca, G., de Andrade, Z., Escalante, G., 1998. Diversity of Glomalean spores from natural, disturbed and revegetated communities growing on nutrient-poor tropical soils. *Soil Biol. Biochem.* 30 (6), 711–719.
- da Silva, I., Aragao, C., Ferreira, R., Alves, D., de Melo, A., Oehl, F., Costa, L., 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along an environmental gradient in the Brazilian semiarid. *Appl. Soil Ecol.* 84, 166–185.
- Falconer, R., Otten, W., White, N., 2015. Towards modeling the resistance and resilience of “below-ground” fungal communities: a mechanistic approach and trait-based approach. Chapter One. *Adv. Appl. Microbiol.* 93, 1–44. ISSN 0065 2164.
- García de León, D., Moora, M., Öpik, M., Neuenkamp, L., Gerz, M., Jairus, T., Vasar, M., Bueno, C., Davison, J., Zobel, M., 2016. Symbiont dynamics during ecosystem succession: co-occurring plant and arbuscular mycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92, 1–9. <https://doi.org/10.1093/femsec/fiw097>.
- García-Oliva, F., Sanford Jr., R., Kelly, E., 1999. Effects of slash-and-burn management on soil aggregate organic C and N in a tropical deciduous forest. *Geoderma* 88 (1–2), 1–12.
- García-Oliva, F., Camou, A., Maass, J.M., 2002. El clima en la región central de la costa del pacífico mexicano. In: Noguera, F., Vega, H., García, A., Quesada, M. (Eds.), *Historia Natural de Chamela*. Instituto de Biología UNAM, México, 563 pp.
- Gavito, M.E., Pérez-Castillo, D., González-Monterrubio, C., Vieyra-Hernández, M.T., Martínez-Trujillo, M., 2008. High compatibility between arbuscular mycorrhizal fungal communities and seedlings of different land use types in a tropical dry ecosystem. *Mycorrhiza* 19, 47–60.
- Gerdemann, J., Nicolson, T., 1963. Spores of mycorrhizal *Endogone* species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46, 234–244.
- Hart, M., Reader, R., 2002. Taxonomic basis for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 153, 335–344.
- Hawkes, C., Keitt, T., 2015. Resilience vs. historical contingency in microbial responses to environmental change. *Ecol. Lett.* 18, 612–625.
- Hiiesalu, I., Pärtel, M., Davison, J., Gerhold, P., Metsis, M., Moora, M., Öpik, M., Vasar, M., Zobel, M., Wilson, S., 2014. Species richness of arbuscular mycorrhizal fungi: associations with grassland plant richness and biomass. *New Phytol.* 203, 233–244. <https://doi.org/10.1111/nph.12765>.
- Hodgson, D., McDonald, J., Hosken, D., 2015. What do you mean, “resilient”? *Trends Ecol. Evol.* 30, 503–506.
- Holling, C.S., 1973. Resilience and stability of ecological systems. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 4, 1–23.
- Jakobsen, I., 1998. Transport of phosphorus and carbon in arbuscular mycorrhizas. In: Varma, A., Hock, B. (Eds.), *Mycorrhiza: Structure, Function, Molecular Biology and Biotechnology*. Springer, Germany, 704 pp.
- Johnson, N., Wedin, D.A., 1997. Soil carbon, nutrients, and mycorrhizae during conversion of dry tropical forest to grassland. *Ecol. Appl.* 7, 171–182.
- Johnson, N., Hoeksema, J., Bever, J., Chaudhary, V., Gehring, C., Klironomos, J., Koide, R., Miller, R., Moore, J., Moutoglou, P., Schwartz, M., Simard, S., Swenson, W., Umbanhowar, J., Wilson, G., Zabinski, C., 2006. From Lilliput to Brodingnag: extending models of mycorrhizal functions across scales. *BioScience* 56 (11), 889–900.
- Kivlin, S., Hawkes, C., Treseder, K., 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 43 (11), 2294–2303.
- Koide, R., Fernandez, C., Malcolm, G., 2013. Determining place and process: functional traits of ectomycorrhizal fungi that affect both community structure and ecosystem function. *New Phytol.* <https://doi.org/10.1111/nph.12538>.
- Koleff, P., Gaston, K., Lennon, J., 2003. Measuring beta diversity for presence absence data. *J. Animal Ecol.* 72, 367–382.
- Koske, A., Tessier, B., 1983. A convenient, permanent slide mounting medium. *Mycol. Soc. Am. Newsl.* 34 (2), 59.
- Lebrija-Trejos, E., Bongers, F., Pérez-García, E., Meave, J., 2008. Successional change and resilience of a very dry tropical deciduous forest following shifting agriculture. *Biotropica* 40 (4), 422–431.
- Lebrija-Trejos, E., Pérez-García, E.A., Meave, J.A., Poorter, L., Bongers, F., 2011. Environmental changes during secondary succession in a tropical dry forest in Mexico. *J. Trop. Ecol.* 27, 477–489.
- Lumini, E., Orgiazzi, A., Borriello, R., Bonfante, P., Bianciotto, V., 2010. Disclosing arbuscular mycorrhizal fungal diversity in soil through a land-use gradient using a pyrosequencing approach. *Environ. Microbiol.* 12, 2165–2179.
- Maass, J.M., Burgos, A., 2011. Water dynamics at the ecosystem level in tropical dry forests. In: Dirzo, R., Young, H., Mooney, H., Ceballos, G. (Eds.), *Seasonally Dry Tropical Forests: Ecology and Conservation*. Island Press, pp. 141–156.
- Magurran, A., 2004. *Measuring Biological Diversity*. Blackwell Science Ltd, United Kingdom, 256pp.
- Maherali, H., Klironomos, J., 2007. Influence of phylogeny on fungal community assembly and ecosystem functioning. *Science* 316, 1746–1748.
- Maherali, H., Klironomos, J., 2012. Phylogenetic and trait-based assembly of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *PLoS One* 7 (5), e36695. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0036695>.
- Maza-Villalobos, S., Lemus-Herrera, C., Martínez-Ramos, M., 2011a. Successional trends in soil seed banks of abandoned pastures of a Neotropical dry region. *J. Trop. Ecol.* 27, 35–49.
- Maza-Villalobos, S., Balvanera, P., Martínez-Ramos, M., 2011b. Early regeneration of tropical dry forest from abandoned pastures: contrasting chronosequence and dynamic approaches. *Biotropica* 46 (6), 666–675.
- Mehlich, A., 1984. Mehlich 3 soil test extractant: a modification of mehlich 2 extractant. *Comm. Soil Sci. Plant Analysis* 15 (12), 1409–1416.
- Miles, L., Newton, A., DeFries, R., Ravilious, C., May, I., Blith, S., Kapos, V., Gordon, J., 2006. A global overview of the conservation status of tropical dry forest. *J. Biogeogr.* 33, 491–505.
- Mora, F., Martínez-Ramos, M., Ibarra-Manríquez, G., Pérez-Jiménez, A., Trilleras, J., Balvanera, P., 2014. Testing chronosequences through dynamic approaches: time and site effects on tropical dry forest succession. *Biotropica*. <https://doi.org/10.1111/btp.12187>.
- Murphy, J., Riley, J.P., 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chem. Acta* 27, 31–36.
- Nielsen, K., Kjoller, R., Bruun, H., Schönoor, T., Rosendahl, S., 2016. Colonization of new land by arbuscular mycorrhizal fungi. *Fungal Ecol.* 20, 22–29.
- Ocampo, M., 2012. Dinámica de la comunidad herbácea del sotobosque de bosques tropicales secos secundarios de Jalisco. (Dynamics of the understory herbaceous community of secondary dry tropical forests of Jalisco). B. Sc. Thesis. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Oehl, F., Laczko, E., Bogenrieder, A., Stahr, K., Bösch, R., van der Heijden, M., Sieverding, E., 2010. Soil type and land use intensity determine the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *Soil Biol. Biochem.* 42, 724–738.

- Oksanen, J., Blanchet, G., Kindt, R., Legendre, P., Minchin, P., O'Hara, R., Simpson, G., Solymos, P., Stevens, H., Wagner, H., 2016. *Vegan: Community Ecology Package*. R package version 2.3–3. <http://CRAN.R-project.org/package=vegan>.
- Pereira, C., da Silva, D., Ferreira, A., Goto, B., Maia, L., 2014. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in Atlantic forest areas under different land uses. *Agriculture. Ecosyst. Environ.* 185, 245–252.
- Picone, C., 2000. Diversity and abundance of arbuscular-mycorrhizal fungus spores in tropical forest and pasture. *Biotropica* 32, 734–750.
- Pinzón-Pérez, L., 2013. Análisis morfofuncional de plántulas para la selección de especies útiles en la restauración de bosques secos tropicales secundarios. M. Sc. Thesis. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Quesada, M., Sánchez-Azofeifa, G., Álvarez-Añorve, M., Stoner, K., Ávila-Cabadilla, L., Calvo-Alvarado, J., Castillo, A., Espírito-Santo, M., Fagundes, M., Fernandes, G., Gamon, J., Lopezaraiza-Mikel, M., Lawrence, D., Cerdeira, L., Powers, J., Neves, F., Rosas-Guerrero, V., Savage, R., Sánchez-Montoya, G., 2009. Succession and management of tropical dry forests in the America's Review and new perspectives. *For. Ecol. Manag.* 258, 1014–1024.
- R Core Team, 2015. *R: a Language and Environment for Statistical Computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. <https://www.Rproject.org/>.
- Redecker, D., Schüßler, A., Stockinger, H., Stürmer, S., Morton, J., Walker, C., 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23, 515–531.
- Rillig, M., Mummey, D., 2006. Mycorrhizas and soil structure. *New Phytol.* 171, 41–53.
- Robertson, P., Coleman, D., Bledsoe, C., Sollins, P., 1999. *Standard Soil Methods for Long-term Ecological Research (LTER)*. Oxford University Press, Oxford.
- Romero-Duque, L.P., Jaramillo, V.J., Pérez-Jiménez, A., 2007. Structure and diversity of secondary tropical dry forests in Mexico, differing in their prior land-use history. *For. Ecol. Manag.* 253, 38–47.
- Sandoval-Pérez, A., Gavito, M.E., García-Oliva, F., Jaramillo, V., 2009. Carbon, nitrogen, phosphorus and enzymatic activities in soils under different land use types in a tropical dry ecosystem. *Soil Use Manag.* 25, 419–426.
- Schüßler, A., Schuarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 108 (12), 1413–1421.
- Stürmer, S., Siqueira, J., 2011. Species richness and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi across distinct land uses in Western Brazilian Amazon. *Mycorrhiza* 21, 255–267.
- Suazo-Ortuno, I., Alvarado-Díaz, J., Mendoza, E., López-Toledo, L., Lara-Urbe, N., Márquez-Camargo, C., Paz-Gutiérrez, J., Rangel-Orozco, J., 2015. High resilience of herpetofaunal communities in a human-modified tropical dry forest landscape in western Mexico. *Trop. Conservation Sci.* 8 (2), 396–423.
- Smith, S., Read, D., 2008. *Mycorrhizal Symbiosis*, third ed. Academic Press, London.
- Technicon Industrial Systems, 1977. Individual/simultaneous Determination of Nitrogen And/or Phosphorus in BD Acid Digests. Industrial method no. 329-74W/B. Technicon Industrial Systems, Tarrytown, New York, USA, 9 pp.
- Trilleras, J., Jaramillo, V., Vega, E., Balvanera, P., 2015. Effects of livestock management on the supply of ecosystem services in pastures in a tropical dry region of western Mexico. *Agric. Ecosyst. Environ.* 211, 133–144.
- Urcelay, C., Díaz, S., Gurvich, D.E., Stuart Chapin III, F., Cuevas, E., Domínguez, L.S., 2009. Mycorrhizal community resilience in response to experimental plant functional type removals in a woody ecosystem. *J. Ecol.* 97, 1291–1301.
- Van der Heijden, M., 2002. Arbuscular Mycorrhizal fungi as a determinant of plant diversity: in search for underlying mechanisms and general principles. In: van der Heijden, M., Sanders, I. (Eds.), *Mycorrhizal Ecology*. Ecological Studies 157. Springer, Germany, 469 pp.
- Van der Heijden, M., Klironomos, J., Ursic, M., Moutoglou, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69–72.
- Varela-Cervero, S., López-García, A., Barea, J.M., Azcón-Aguilar, C., 2016. Spring to autumn changes in the arbuscular mycorrhizal fungal community composition in the different propagule types associated to a Mediterranean shrubland. *Plant soil* 408, 107–120. <https://doi.org/10.1007/s11104-016-2912-3>.
- Villa-Galaviz, E., Boege, K., del-Val, E., 2012. Resilience in plant-herbivore networks during secondary succession. *PLoS ONE* 7 (12), e53009. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053009>.
- Voets, L., de la Providencia, I., Declerck, S., 2006. Glomeraceae and Gigasporaceae differ in their ability to form hyphal networks. *New Phytol.* 172, 185–188.
- Warton, D., Hui, F., 2011. The arcsine is asinine: the analysis of proportions in ecology. *Ecology* 92 (1), 3–10.
- Xiang, D., Verbruggen, E., Hu, Y., Veresoglou, S., Rillig, M., Zhou, W., Xu, T., Li, H., Hao, Z., Chen, Y., Chen, B., 2014. Land use influences arbuscular mycorrhizal fungi communities in the farming-pastoral ecotone of northern China. *New Phytol.* 204, 968–978.
- Zhang, Y., Gui, L., Liu, R., 2004. Survey of arbuscular mycorrhizal fungi in deforested and natural forest land in the subtropical region of Dujiangyan, southwest China. *Plant Soil* 261, 257–253.
- Zuur, A., Ieno, E., Elphick, C., 2010. A protocol for data exploration to avoid common statistical problems. *Methods Ecol. Evol.* 1, 3–14.