

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXPERIMENTALES**

**GRADO EN CIENCIAS AMBIENTALES**



**“ESTUDIO SOBRE LA COLONIZACIÓN DE HONGOS  
MICORRÍMICOS ARBUSCULARES EN ESPECIES VEGETALES  
PRESENTES EN ECOSISTEMAS DE YESO”**

TRABAJO DE FIN DE GRADO

CURSO 2015- 2016

Autora: Esther Muries Berenguer

TUTORAS: Gisela Díaz Espejo y Pilar Torres Martínez

DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA APLICADA. AREA DE BOTÁNICA

## **“ESTUDIO SOBRE LA COLONIZACIÓN DE HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN ESPECIES VEGETALES PRESENTES EN ECOSISTEMAS DE YESO”**

Los suelos de yeso que aparecen con frecuencia en zonas áridas, son uno de los sustratos más restrictivos y estresantes para la vida vegetal. En ellos, la presencia de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) podría ser la clave para la supervivencia de muchas plantas, ya que esta simbiosis aporta infinidad de beneficios a los individuos que la presentan. En el presente estudio, se ha analizado la colonización micorrícica en raíces de 28 especies vegetales presentes en este tipo de sustratos, nueve especialistas de suelos de yeso o gipsófitos y diecinueve generalistas tolerantes a éstos o gipsovagos. Nuestro objetivo ha sido detectar la posible diferencia de colonización entre gipsófitos y gipsovagos, así como estudiar la influencia del estado de conservación de la comunidad vegetal en las pautas de colonización micorrícica. El estado de la comunidad vegetal determina el grado de micorrización de la comunidad vegetal, con valores muy bajos en la comunidad más degradada. Aunque no se observaron diferencias globales entre gipsófitos y gipsovagos, en las localidades degradadas se detectaron mayores niveles de colonización en los gipsovagos. Además, la colonización micorrícica depende de la especie hospedadora y su pertenencia a una determinada Familia.

**Palabras clave:** Micorriza, Yeso, Gipsófito, Gipsóvago.

## **“STUDY ON ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGAL COLONIZATION IN PLANT SPECIES FROM GYPSUM ECOSYSTEMS”**

Gypsum soils, which appear frequently in arid areas, are one of the most restrictive and stressful substrates for plant life. The presence of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) could be the key to the survival of many plants, since this symbiosis brings countless benefits to individuals who host it. In the present study, the mycorrhizal colonization in roots of 28 plants species from gypsum soils, nine specialists (gypsophytes) and nineteen generalists (gypsovags), has been determined. Our goal was to see differences between gypsophytes and gypsovags colonization, as well as to study the influence of the conservation status of the plant community on the patterns of mycorrhizal colonization. The state of the plant community determines the degree of mycorrhizal colonization of the plant community as a whole, with very low values in the most degraded community. Although global differences between gypsophytes and gipsovags were not observed, higher levels of colonization in gypsovags than gypsophytes were detected in degraded places. In addition, mycorrhizal colonization depends on the host species and their belonging to a particular Plant Family.

**Keywords:** Mycorrhiza, Gypsum, Gypsophyte, Gypsovag.

**Debo agradecer de manera especial a Gisela Díaz Espejo por haberme guiado durante todos estos meses, por tu confianza en mí para la realización de éste trabajo y, sobre todo, por tu tiempo.**

A mis profesores, por haber compartido conmigo vuestra experiencia y conocimiento.

A mi familia, por brindarme vuestro apoyo moral y económico para lograr mi objetivo.

*Al Medioambiente, por haberme mostrado tu belleza, por enseñarme a cuidarte, por permitirme conocerte...*

Me llevo de vosotros lo mejor de cada uno

GRACIAS

## ÍNDICE

1.-INTRODUCCIÓN.....	6
1.1 ECOSISTEMAS DE YESOS.....	6
1.2. COMUNIDAD VEGETAL ESTUDIADA .....	7
1.3.- MICORRIZAS .....	9
2.- ANTECEDENTES Y OBJETIVOS.....	9
2.1.-MICORRIZAS EN ECOSISTEMAS DE YESOS .....	9
2.2.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....	11
3.- MATERIALES Y MÉTODOS .....	12
3.1. ZONA DE ESTUDIO .....	12
3.2. MATERIAL Y MÉTODOS DE CAMPO.....	15
3.3. MATERIAL Y MÉTODOS DE LABORATORIO.....	17
3.3.1. VISUALIZACIÓN DE LA MICORRIZACIÓN POR HONGOS ARBUSCULARES.....	17
3.3.2. CUANTIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES. ....	20
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	21
4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	22
4.1.- COLONIZACIÓN MICORRÍCA SEGÚN LA ESPECIE Y FAMILIA TAXONÓMICA .....	24
4.2.- COLONIZACIÓN MICORRÍCA Y FUNCIONALIDAD DE LA PLANTA .....	29
4.3.- COLONIZACIÓN MICORRÍCA Y ESTADO DE CONSERVACION DE LA COMUNIDAD VEGETAL .....	31
4.4.- DISCUSIÓN GENERAL .....	34
5.- CONCLUSIONES Y PROYECCIÓN FUTURA.....	35
6.- BIBLIOGRAFIA.....	36

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1:Detalle de la zona de estudio situada entre Caravaca de la Cruz y Lorca.....	12
Figura 2: Aspecto general y datos de la comunidad el Rincón.....	13
Figura 3: Aspecto general y datos de la comunidad de Campo Coy. ....	13
Figura 4: Aspecto general y datos de la comunidad Islas Doña Inés. ....	14
Figura 5: Aspecto general y datos de la comunidad el Mingrano.....	14
Figura 6: Aspecto general y datos de la comunidad de Lorca.....	15
Figura 7: Detalle de algunas de las plantas del estudio .....	16
Figura 8: Raíces en cassette de inclusión .....	17
Figura 9: Muestras sumergidas en KOH en baño a 90 °C.....	18
Figura 10: Agitador mezclando el Azul Tripán con ácido láctico.....	19
Figura 11: Muestras conservadas en agua destilada. ....	19
Figura 12: Caja Petri con raíces teñidas para marcar la micorrización distribuida uniformemente por el método de intersección de línea. <a href="http://mycorrhizas.info/method.html">http://mycorrhizas.info/method.html</a> .....	20
Figura 13: Raíces teñidas distribuidas al azar en la placa reticulada .....	21
Figura 14: Vista microscópica (1,2) y estereomicroscópica (3,4,5,6) de raíces micorrizadas. 1. <i>Ononis tridentata</i> , 2. <i>Herniaria fruticosa</i> , 3 y 5. <i>Helianthemum squamatum</i> ,6. <i>Teucrium balthazaris</i> .....	23

## ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1: Diagrama de caja que representa el porcentaje de colonización micorrícica en 28 especies de suelos yesíferos. ....	25
Gráfica 2: Valores promedio de colonización micorrícica en 28 especies de plantas de suelos yesíferos. ....	26
Gráfica 3: Colonización Micorrícica en plantas de suelos yesíferos en función de la agrupación filogenética por Familias .....	28
Gráfica 4:Valores promedio de colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en función de su gipsofilia.....	29
Gráfica 5: Análisis de Kernel de densidad. En las abscisas el porcentaje de micorrización, en las ordenadas la densidad de plantas que representarían ese porcentaje.....	30
Gráfica 6: Colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en localidades con distinto grado de conservación .....	32
Gráfica 7: Diagrama de caja de colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en localidades con distinto grado de conservación .....	32
Gráfica 8: Comparación de la colonización micorrícica entre gipsófitos y gipsovagos por localidad. ....	34

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Antecedentes de micorrizas en plantas de suelos de yesos .....	10
Tabla 2: Número, familia y carácter gipsófito o gipsovago de las 225 muestras analizadas. ....	22

## 1.-INTRODUCCIÓN

### 1.1 ECOSISTEMAS DE YESOS.

Los ecosistemas de yesos (del latín Gypsum, mineral cuya composición es sulfato cálcico hidratado ( $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ )) constituyen sistemas de un gran interés biológico por la riqueza y rareza de especies que albergan, ya que, la presencia de yesos ejerce una influencia decisiva sobre la vegetación natural. Son comunidades de baja cobertura vegetal, compuestas por matorrales y tomillares con especies de porte medio o bajo, con un alto grado de endemismos con un área de distribución restringida, muy interesantes a nivel botánico y científico, por lo que es muy importante su conservación. Entre las especies vegetales que conforman estas comunidades se encuentran los denominados gipsófitos o especies especialistas, que son plantas que crecen exclusivamente sobre el yeso, y los denominados gipsovagos o especies generalistas, tolerantes a la presencia de yeso en el suelo, pero de distribución amplia en otros tipos de suelo. Los ecosistemas gipsícolas ocupan más de 100 millones de hectáreas en el mundo y aparecen con frecuencia en las zonas áridas del planeta donde la baja precipitación impide la lixiviación del yeso. Además de éstas condiciones de aridez, las propiedades físicas y químicas de este tipo de suelo proporcionan a las plantas que viven en él un estrés añadido, ya que por ejemplo, su fuerte capacidad de retención hídrica dificulta la absorción de agua por parte de las plantas, la dureza de las costras del suelo obstaculiza el establecimiento de las plántulas (Mota *et al.* 2011), los altos contenidos en yeso afectan al balance de nutrientes y reducen la disponibilidad de algunos de los más esenciales como N y P, además de ser suelos pobres en porosidad, y tener un alto contenido en sulfatos. En consecuencia, estos ecosistemas son unos de los más restrictivos para la vida de las plantas.

La vegetación gipsícola del SE ibérico es bastante diversa y se distribuye sobre un conjunto de afloramientos de yesos de superficie variable. Desde el punto de vista Fitosociológico se reconocen varias Asociaciones recogidas en el listado de la Directiva Hábitat como prioritarias, 1520 \* Vegetación gipsícola ibérica (Gypsophiletalia) (Alcaraz *et al.* 2008). Todas ellas se distribuyen formando islas edáficas de mayor o menor extensión, que en su conjunto formaría auténticos archipiélagos de vegetación gipsícola. Esta distribución discontinua supone que pequeñas perturbaciones del

sistema, provocarían grandes cambios en las poblaciones de determinadas especies que habitan en él.

Datos recientes señalan que la superficie ocupada por éste tipo de hábitat experimenta desde hace años un profundo declive (Escudero 2009). Esto es debido a la roturación de terrenos marginales, a la forestación de tierras agrícolas marginales y especialmente en el Sureste peninsular, a la extracción en canteras de yesos. Si sumamos las afecciones antrópicas sobre éste tipo de suelo a las condiciones naturales en las que *per se* encontramos éstos ecosistemas, es indudable el peligro de la persistencia de éste tipo de hábitat, lo que repercute directamente sobre éstas plantas tan especialistas.

## 1.2. COMUNIDAD VEGETAL ESTUDIADA

En la Región de Murcia los afloramientos de yesos alcanzan una particular relevancia tanto por su extensión, como por las especies presentes en las comunidades vegetales que los colonizan. De las cuatro asociaciones o comunidades diferentes, recogidas en el listado de la Directiva Hábitat como prioritarias, la mejor representada es la asociación 152034 *Lepidium subulati-Teucrietum balthazaris* \* Alcaraz, P. Sánchez, De la Torre, Ríos & J. Alvarez 1991. (Alcaraz *et al.* 2008)

Constituye la unidad de mayor superficie dentro de la Región de Murcia, son afloramientos de yesos con un área de ocupación de 112 Km<sup>2</sup> y una extensión de presencia de 1859 Km<sup>2</sup> que conforman un archipiélago de islotes edáficos de distinta extensión.

Aparece en el piso bioclimático mesomediterráneo, en ombrotipos semiárido y secos, con suelos poco evolucionados formados a partir de rocas con altos contenidos en yeso, siendo frecuente la presencia de un horizonte gípsico en el perfil. Se distribuye en Campo de Lorca y Caravaca, desde El Rincón hasta la cordillera Campo Coy (manchego-espunense y campo interior de Lorca).

Se trata de tomillares abiertos caracterizados por la especie *Teucrium balthazaris*, endemismo de las provincias de Murcia y Almería, y por la crucífera de carácter gipsófilo continental *Lepidium subulatum*. Otros taxones frecuentes de naturaleza gipsófila frecuentes en ésta comunidad son *Helianthemum squamatum*, *Herniaria fruticosa* subsp. *fruticosa* y *Ononis tridentata*. Es característica la presencia líquenes gipsícolas muy sensibles al pisoteo.

En cuanto al estado de conservación y tendencias evolutivas en la Región de Murcia, como otros tomillares gipsícolas, cuando se asientan en sustratos yesíferos muy compactos pueden representar la vegetación permanente, mientras que en zonas de sustrato menos consolidado la variante de *Ononis tridentata* puede constituir una etapa de degradación avanzada de chaparrales (*Rhamno-Quercetum cocciferae*) y más raramente de encinares (*Quercetum rotundifoliae*). En cuanto a los Indicadores del estado de conservación, en las superficies de yeso duro los mejores indicadores son las dos especies que dan nombre a la asociación, *Lepidium subulatum* y *Teucrium baltazaris* (presencia y abundancia), mientras que en los sustratos yesíferos menos consolidados la vitalidad y mayor o menor abundancia de *Ononis tridentata* son los criterios a considerar. Los tomillares gipsícolas más alterados muestran una alta penetración de plantas más banales o, dentro de los gipsófitos, de las de ecología más amplia, como *Helianthemum squamatum*.

Las principales amenazas para ésta comunidad son la roturación para nuevos cultivos, la extracción canteril de yesos y la apertura de pistas e infraestructuras. Otra amenaza a considerar es la repoblación que han sufrido estas zonas con pinos mediante subsolado, el cual, fragmenta los horizontes del suelo en profundidad y que en buena medida ya han desnaturalizado el valor de muchas de las poblaciones murcianas. Por último, algunos lugares considerados terrenos de escaso valor social, han venido siendo zonas de vertidos ilegales de escombros y basura.

### 1.3.- MICORRIZAS

Las micorrizas (Myco:Hongo, Rhizos: Raíces) son una asociación simbiótica mutualista entre raíces de plantas superiores y ciertos grupos de hongos del suelo. Estos hongos dependen de la planta para el suministro de carbono, energía y de un nicho ecológico a la vez que entregan a la planta multitud de beneficios como pueden ser la absorción de nutrientes (especialmente los poco móviles como el P), el incremento de la tasa fotosintética, ajustes osmóticos cuando hay sequía, incremento de la resistencia a plagas, tolerancia al estrés ambiental, mejora de la agregación del suelo y la mediación en muchas de las acciones e interacciones de la microflora y microfauna que ocurren en el suelo alrededor de las raíces. Debido a este papel crucial, actualmente se acepta que la diversidad y actividad de la microbiota edáfica es uno de los mecanismos que contribuyen de forma más decisiva al mantenimiento de la cubierta vegetal, a la conservación del suelo y por tanto a la estabilidad y funcionamiento de los ecosistemas (Van der Heijden *et al.* 2006; Vogelsang *et al.* 2006). En diversos estudios se ha comprobado que la diversidad de plantas y la diversidad de ecosistemas y su productividad están directamente relacionadas con la diversidad de hongos micorrícicos arbusculares (MA) (Hart y Klironomos 2002). La creciente evidencia de la importancia de la diversidad de hongos MA en un ecosistema para su funcionamiento, ha llevado a un incremento notable del conocimiento sobre su diversidad en distintos ambientes (Alguacil *et al.* 2011; Lekberg *et al.* 2013; Opik *et al.* 2013).

## 2.- ANTECEDENTES Y OBJETIVOS

### 2.1.-MICORRIZAS EN ECOSISTEMAS DE YESOS

En los suelos de yesos, los hongos MA pueden jugar un papel muy importante en la mejora del establecimiento y desarrollo de los gipsófitos. Sin embargo, los datos sobre la condición micorrícica en plantas de yesos son escasos. En la tabla 1 se muestra una recopilación de las especies estudiadas hasta ahora en relación a la colonización micorrícica.

En estudios recientes se ha conocido la comunidad de hongos MA que colonizan las raíces de *Gypsophila struthium*, utilizando técnicas moleculares para su determinación (Alguacil *et al.* 2009a). Posteriormente, Alguacil *et al.* (2009b) detectaron la presencia de hongos MA exclusivos de suelos yesíferos junto con otras especies mas generalistas,

sugiriendo la existencia de un cierto grado de preferencia en las interacciones entre simbioses. Palacio *et al.* (2012) afirman que existe una diferencia entre plantas especialistas de suelos yesíferos (gipsófitos) y no especialistas (gipsovagos) en cuanto a su capacidad para desarrollar asociaciones micorrícicas, aunque no identifican las especies fúngicas presentes en estas plantas. Recientemente se ha comprobado que gipsófitos perennes albergan comunidades de hongos MA con mayor diversidad y diferente composición que especies anuales (Alguacil *et al.* 2012). Torrecillas *et al.* (2014) en un estudio con *Ononis tridentata*, *Helianthemum squamatum*, *Launaea pumila*, *Globularia alypum*, *Helychrysum stoechas* y *Anthyllis terniflora*, comprobaron que el tipo de suelo es el principal factor que explica las diferencias en la composición de las comunidades de hongos MA. Pero además observaron que, dentro de las áreas de yeso, existen diferencias según los grupos funcionales de plantas. Así, los gipsovagos albergan comunidades de hongos arbusculares más diversas filogenéticamente que los gipsófitos. Pero realmente se desconoce los fenómenos responsables de esta preferencia, su repercusión en las comunidades de plantas así como la influencia de estos factores en el grado de colonización micorrícica.

Tabla 1: Antecedentes de micorrizas en plantas de suelos de yesos

ESPECIE	COLONIZACION HMA (%)	LOCALIDAD	AUTOR
<i>Anthyllis terniflora</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Artemisia herba-alba</i>	97	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Bromus rubens</i>	+	El Rincón (Lorca)	Alguacil <i>et al</i> 2009a.
<i>Globularia alypum</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Gypsophila struthium</i>	42	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Gypsophila struthium</i>	37-41	Villena (Alicante)	Alguacil <i>et al</i> 2009
<i>Gypsophila struthium</i>	30-46	Paraje Cabecicos, Villena (Alicante)	Alguacil <i>et al</i> 2009
<i>Helianthemum squamatum</i>	49	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Helianthemum squamatum</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Helianthemum squamatum</i>	23-31	Villena (Alicante)	Alguacil <i>et al</i> 2009

<i>Helianthemum syriacum</i>	65	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Helichrysum stoechas</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Herniaria fruticosa</i>	46	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Herniaria fruticosa</i>	+	El Rincón (Lorca)	Alguacil <i>et al</i> 2009a.
<i>Launaea pumila</i>	75	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Launaea pumila</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Lepidium subulatum</i>	40	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Linum suffruticosum</i>	80	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Ononis tridentata</i>	64	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Ononis tridentata</i>	+	Las ventanas (Albatera)	Torrecillas <i>et al</i> 2014.
<i>Ononis tridentata</i>	40-61	Villena (Alicante)	Alguacil <i>et al</i> 2009
<i>Reseda stricta</i>	7	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Senecio auricula Bourg</i>	+	El Rincón (Lorca)	Alguacil <i>et al</i> 2009a.
<i>Salsola vermiculata</i>	27	Villamayor, Zaragoza	Palacio <i>et al</i> 2012a.
<i>Teucrium libanitis</i>	58-70	Villena (Alicante)	Alguacil <i>et al</i> 2009

## 2.2.- JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

Este Trabajo Fin de Grado forma parte de las investigaciones llevadas a cabo en el marco del Proyecto de Investigación *Impacto de la fragmentación del hábitat en la diversidad de Hongos Micorrícicos Arbusculares en ecosistemas de yesos como indicador de vulnerabilidad al cambio climático*, CGL2013-42312-R financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad en la Convocatoria de Ayudas a Proyectos I+D+i, orientada a los Retos de la Sociedad 2013 (Investigadores principales, Dra. Gisela Díaz y Dra. Pilar Torres).

Los datos de composición de las comunidades de hongos MA, así como los datos de las pautas de colonización micorrícica en las áreas yesíferas son todavía muy escasos en comparación con otros ecosistemas. No se conoce tampoco qué condiciona la intensidad de colonización de las raíces por parte de hongos MA en yesares. Por ello se hace necesario ampliar el rango de especies y estudiar los diferentes factores que podrían ser causantes de la formación de esta simbiosis en ecosistemas de yesos.

En función de los antecedentes expuestos anteriormente, en este trabajo la hipótesis planteada ha sido "en ecosistemas de yesos, las especies vegetales generalistas (o

gipsovagos) y las especialistas (gipsófitos), presentan diferentes pautas de colonización micorrícica”.

Para comprobar esta hipótesis, se plantean los siguientes objetivos:

- Determinar la condición micorrícica y el grado de colonización en especies vegetales que crecen en suelos yesíferos.
- Detectar la diferencia entre gipsófitos y gipsovagos en cuanto a colonización micorrícica.
- Constatar la prevalencia micorrícica en una comunidad vegetal con diferentes estados de conservación.

### 3.- MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. ZONA DE ESTUDIO

La zona de estudio se sitúa en Campo de Lorca y Caravaca, Murcia (figura 1). La precipitación media anual varía entre 282–350 mm. La temperatura media anual oscila desde 15,5 a 16,6°C.



Figura 1:Detalle de la zona de estudio situada entre Caravaca de la Cruz y Lorca.

Se seleccionaron cinco localidades (Figuras 2, 3, 4, 5 y 6), todas ellas correspondientes a la vegetación potencial de *Lepidio subulati-Teucrietum balthazaris*, y similares condiciones climáticas y/o edáficas, pero con diferente estado de conservación:

**1. EL RINCÓN** (figura 2). La comunidad aparece bien conservada, las especies indicadoras *Teucrium baltazaris* y *Lepidium subulatum* aparecen bien representadas, junto con otros gipsófitos como *Launaea pumila* o *Helianthemum squamatum*, de ecología más amplia. En cambio, gramíneas tolerantes como albardín y esparto son escasas. La costra de líquenes está presente y no se observan amenazas antrópicas.



Figura 2: Aspecto general y datos de la comunidad el Rincón.

**2.CAMPO COY** (Figura 3) Es la localidad con mayor extensión. La comunidad aparece bien conservada, con abundantes afloramientos de yeso duro. Las especies indicadoras, en particular *Lepidium subulatum*, están bien representadas. La presencia de esparto y albardín es ocasional, aunque con mayor presencia que en el Rincón. Las principales amenazas observadas son la presencia de pistas y la ganadería.



Figura 3: Aspecto general y datos de la comunidad de Campo Coy.

**3. DOÑA INÉS** (figura 4). La principal amenaza es la fragmentación, pues se trata de islotes rodeados de campos de cultivo. La comunidad gipsícola, por tanto, se circunscribe a los islotes no roturados.



Figura 4: Aspecto general y datos de la comunidad Islas Doña Inés.

**4. EL MINGRANO** (figura 5). Se trata de un tomillar gipsícola bajo un pinar de repoblación y delimitado por pistas forestales. Las especies indicadoras de la comunidad, *Teucrium baltazaris* y *Lepidium subulatum*, están ausentes, siendo sustituidas por otras de amplio rango como *Ononis tridentata*, *Herniaria fruticosa*, o *Frankenia corymbosa* o *Helianthemum squamatum*.



Figura 5: Aspecto general y datos de la comunidad el Mingrano.

**5.LORCA** (figura 6). Localidad muy degradada por su cercanía a fabricas y carreteras, por ser zona de vertidos de escombros, y por estar afectada por procesos de salinización y nitrificación. Los gipsófitos estrictos están ausentes, y en sustitución aparecen Quenopodiaceas como *Suaeda vera*, *Atriplex glauca*, *Salsola genistoides* y Plumbagináceas como *Limonium sp.*



Figura 6: Aspecto general y datos de la comunidad de Lorca.

### 3.2. MATERIAL Y MÉTODOS DE CAMPO

En cada localidad se se seleccionaron 2-4 islotes o parcelas de muestreo, en función del tamaño de la zona de yesares, con un total de 15 parcelas de muestreo. En cada una de ellas se realizó un muestreo aleatorio de 15 individuos, que trataba de representar la diversidad de la vegetación, de acuerdo a datos procedentes de estudios previos. El total de individuos muestreados fue de 225, correspondientes a 28 especies vegetales (figura 7).

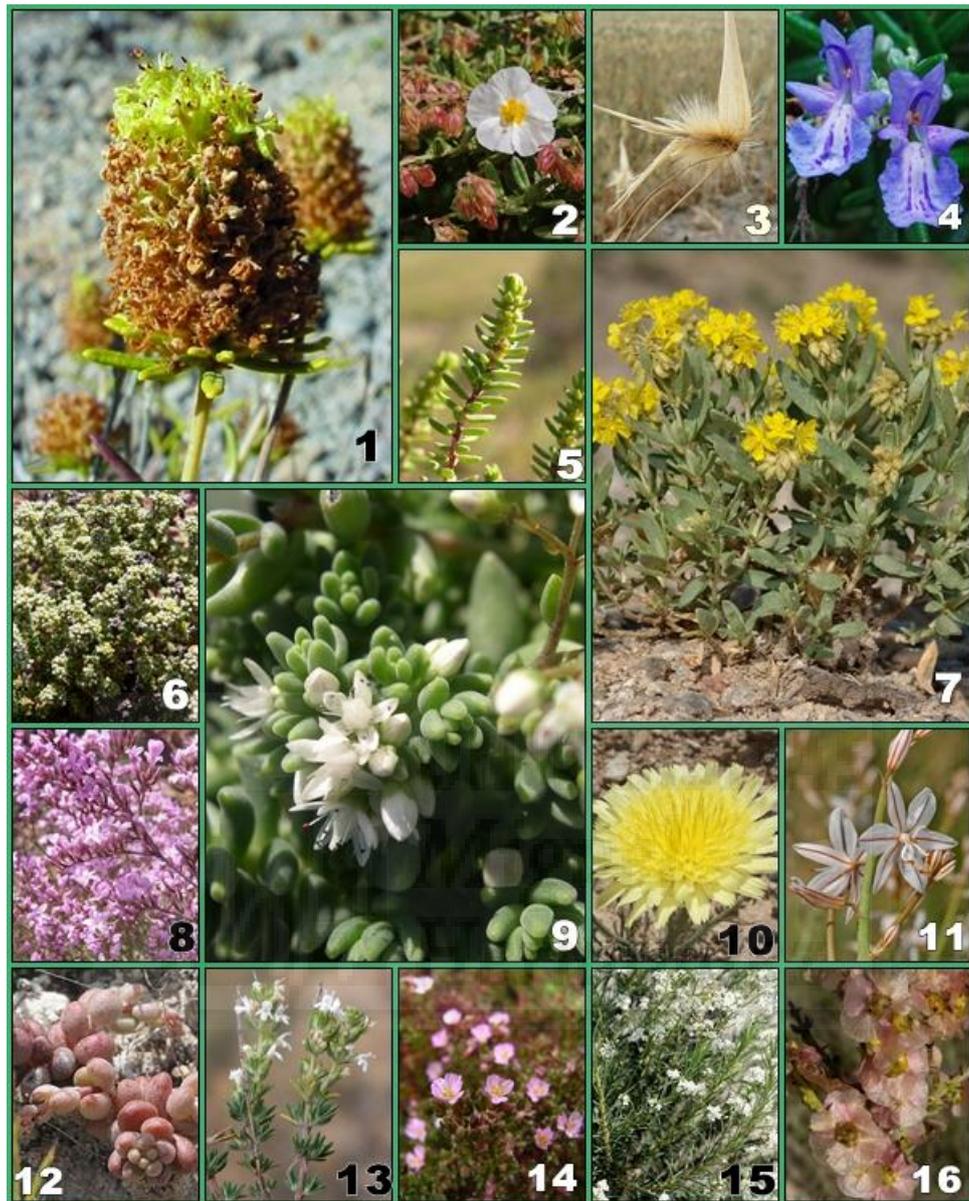


Figura 7: Detalle de algunas de las plantas del estudio; 1: *Teucrium balthazaris*, 2: *Helianthemum viscarium*, 3: *Lygeum spartum*, 4: *Rosmarinus officinalis*, 5: *Suaeda vera*, 6: *Herniaria fruticosa*, 7: *Helianthemum squamatum*, 8: *Limonium caesium*, 9: *Sedum gypsicola*, 10: *Launaea pumila*, 11: *Asphodelus fistulosus*, 12: *Sedum gypsicola*, 13: *Thymus zygis*, 14: *Frankenia thymifolia*, 15: *Lepidium subulatum*, 16: *Salsola genistoides*. Fuente: <https://commons.wikimedia.org/wiki/>

Para cada planta, se tomaron muestras del sistema radical (aprox. 200g) con ayuda de una azada y una pequeña pala. Las muestras fueron introducidas en bolsas de plástico con cierre zip y llevadas a los laboratorios del departamento de botánica de la Universidad Miguel Hernández de Elche, donde se congelaron para, más tarde, ser analizadas.

### 3.3. MATERIAL Y MÉTODOS DE LABORATORIO

#### 3.3.1. VISUALIZACIÓN DE LA MICORRIZACIÓN POR HONGOS ARBUSCULARES

Para poder visualizar las micorrizas arbusculares es necesario realizar una tinción selectiva, pues éstas no son visibles a simple vista. Tras la realización de ésta tinción, las estructuras de colonización arbuscular que se pueden observar son: "arbusculos" (órgano de intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta), "vesículas" (estructura de reserva de nutrientes del hongo) y "micelio", que en ocasiones forma unas estructuras en forma de tirabuzón denominadas "coils".

Una vez en laboratorio, se separaba la tierra de las raíces y se seleccionaban las raíces más finas, que son las susceptibles de ser colonizadas por hongos micorrícicos y se lavaban cuidadosamente con el objetivo de quitarles las partículas de suelo que puedan llevar adheridas.

Para facilitar la tinción y evitar que se mezclen las muestras se utilizaron cassettes de inclusión. Estos se numeron previamente con una aguja (rayándolos) evitando así que los procesos de tinción, los cuales son bastante agresivos, borren los números. Para asegurarnos de que las raíces no salen del cassette incluimos 2 rejillas de metal con luz de malla más pequeña a cada lado (Figura 8)



*Figura 8: Raíces en cassette de inclusión*

Para llevar a cabo la tinción de las raíces se utilizó el Método de Phillips y Hayman (1970) técnica que permite detectar las estructuras fúngicas que han penetrado en la raíz de las plantas.

En primer lugar, se lavaron las raíces varias veces para eliminar los residuos. Más tarde, los segmentos de la raíz se colocaron en hidróxido de potasio al 10% y se calentaron durante aproximadamente 1 hora a 90°C al baño maría (Figura 9). Éste procedimiento se lleva a cabo para digerir el contenido celular.



Figura 9: Muestras sumergidas en KOH en baño a 90 °C.

Una vez transcurrido el tiempo en el baño se eliminó el KOH y se lavaron las raíces nuevamente con agua corriente. Después se sumergieron durante 10 minutos aproximadamente en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (10 vol.) para que quedaran blancas y se enjuagaron nuevamente con agua. Al tratarse de muestras de campo con raíces muy lignificadas y pigmentadas es necesario decolorarlas a fin de que el colorante penetre bien, por lo que el tiempo que deben permanecer en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> dependerá del grado de pigmentación.

Inmediatamente se añadió el HCl 0,1N hasta que todos los cassettes quedaron sumergidos, se dejó reposar durante 5 minutos y se eliminó, esta vez sin aclarar con agua ya que las raíces deben estar acidificadas para la tinción.

A continuación, se añadió el azul Tripán (0,05% en ácido láctico) (Figura 10) y se mantuvo de 5 a 10 minutos en el baño a 90°C.



Figura 10: Agitador mezclando el Azul Tripán con ácido láctico.

Seguidamente se eliminó el colorante y se conservaron las raíces en agua destilada hasta su análisis (Figura 11).



Figura 11: Muestras conservadas en agua destilada.

### 3.3.2. CUANTIFICACIÓN DE LA INFECCIÓN POR HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES.

La cuantificación de la colonización micorrícica de la raíz se realizó con el método de Giovannetti y Mosse (1980), el cual permite una estimación del porcentaje de presencia de HMA en las muestras mediante un procedimiento sencillo.

En este método, los fragmentos de las raíces teñidas se distribuyen al azar en una placa reticulada y se observan bajo estereomicroscopio las intersecciones de las raíces con el retículo, distinguiendo los puntos de raíz micorrizados de los que no lo están. El porcentaje de micorrización viene dado por el cociente entre los puntos de raíz micorrizada y el total de puntos observados. (CM):

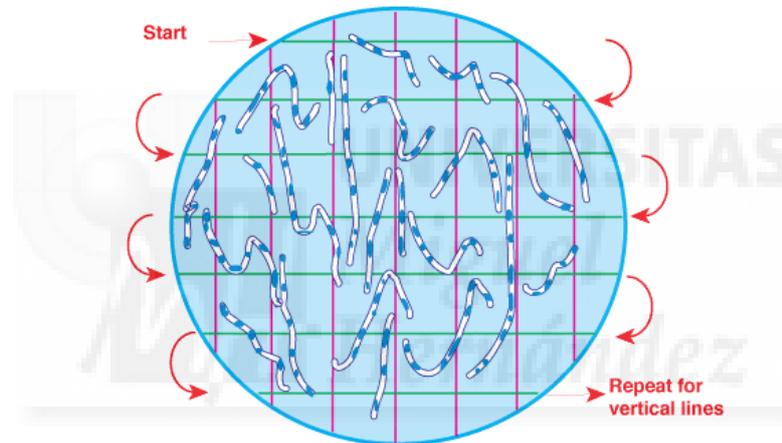


Figura 12: Caja Petri con raíces teñidas para marcar la micorrización distribuida uniformemente por el método de intersección de línea. <http://mycorrhizas.info/method.html>

$$\% \text{ CM} = \frac{\text{Número total de intersecciones con raíces micorrizadas}}{\text{Número total de intersecciones entre la raíz y las líneas de la cuadrícula}} \times 100$$



Figura 13: Raíces teñidas distribuidas al azar en la placa reticulada

### 3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para cada planta se consideró la especie y familia a la que pertenecía según los criterios de The Plant List, (<http://www.theplantlist.org/>) y el carácter de gipsofilia según los criterios de Escudero *et al.* (2015).

Los datos obtenidos se analizaron con los programas estadísticos RStudio y Microsoft Excel. Los test utilizados han sido: test de normalidad de Shapiro-Wilk y test no paramétrico de Kruskal-Wallis. También se han realizado modelos lineales generalizados, GLM de cada factor.

## 4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 2 se muestran las especies de plantas estudiadas, su adscripción taxonómica a Familia, número de muestras analizadas de cada una y carácter Gipsófito o Gipsovago:

Tabla 2: Número, familia y carácter gipsófito o gipsovago de las 225 muestras analizadas.

ESPECIE	FAMILIA <sup>(1)</sup>	Nº DE MUESTRAS	Gipsófito/Gipsovago
<i>Anthyllis cytisoides</i> L.	Fabaceae	1	Gipsovago
<i>Artemisia barrelieri</i> Besser	Asteraceae	11	Gipsófito
<i>Asphodelus fistulosus</i> L.	Xanthorrhoeaceae	3	Gipsovago
<i>Atriplex glauca</i> L.	Chenopodiaceae	2	Gipsovago
<i>Brachypodium retusum</i> (Pers.) P.Beauv.	Poaceae	2	Gipsovago
<i>Centaurea</i> sp.	Asteraceae	1	Gipsovago
<i>Cistus</i> sp.	Cistaceae	1	Gipsófito
<i>Frankenia thymifolia</i> Desf.	Frankeniaceae	8	Gipsófito
<i>Helianthemum lavandulifolium</i> Mill.	Cistaceae	8	Gipsovago
<i>Helianthemum squamatum</i> (L.)Dum.Cours.	Cistaceae	40	Gipsófito
<i>Helianthemum viscarium</i> Boiss.& Reut.	Cistaceae	6	Gipsovago
<i>Helichrysum stoechas</i> (L.)Moench	Asteraceae	1	Gipsovago
<i>Herniaria fruticosa</i> L.	Caryophyllaceae	28	Gipsófito
<i>Launaea pumila</i> (Cav.)Kuntze	Asteraceae	7	Gipsovago
<i>Lepidium subulatum</i> L.	Brassicaceae	11	Gipsófito
<i>Limonium caesium</i> (Girard) Kuntze	Plumbaginaceae	10	Gipsófito
<i>Limonium thiniense</i> Erben	Plumbaginaceae	2	Gipsovago
<i>Lygeum spartum</i> Loefl.ex L.	Poaceae	7	Gipsovago
<i>Ononis tridentata</i> L.	Fabaceae	8	Gipsófito
<i>Plantago albicans</i> L.	Plantaginaceae	9	Gipsovago
<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Lamiaceae	5	Gipsovago
<i>Salsola genistoides</i> Juss. ex Poir.	Chenopodiaceae	4	Gipsovago
<i>Sedum gypsicola</i> Boiss.& Reut.	Crasuláceae	2	Gipsófito
<i>Stipa offneri</i> Breistr.	Poaceae	3	Gipsovago
<i>Stipa tenacissima</i> L.	Poaceae	12	Gipsovago
<i>Suaeda vera</i> Forssk. ex J.F.Gmel	Chenopodiaceae	13	Gipsovago
<i>Teucrium balthazaris</i> Sennen	Lamiaceae	9	Gipsófito
<i>Thymus zygis</i> L.	Lamiaceae	11	Gipsovago
<b>TOTAL: 28 ESPECIES</b>		<b>225 INDIVIDUOS</b>	

(1) Fabaceae o Leguminosae; Asteraceae o Compositae; Brassicaceae o Cruciferae; Chenopodiaceae o Amarantaceae.

El protocolo de tinción se modificó ligeramente, ya que al tratarse de muestras de campo de plantas arbustivas perennes presentaban en general raíces pigmentadas y muy lignificadas. La mayoría de las muestras tuvieron que someterse a un tiempo prolongado de digestión con KOH y decoloración con peróxido de entre 10 y 20 minutos. Finalmente, todas se pudieron estudiar, aunque en la mayoría de los casos fue necesario la observación con el microscopio óptico para confirmar la presencia de las estructuras típicas de los hongos arbusculares.

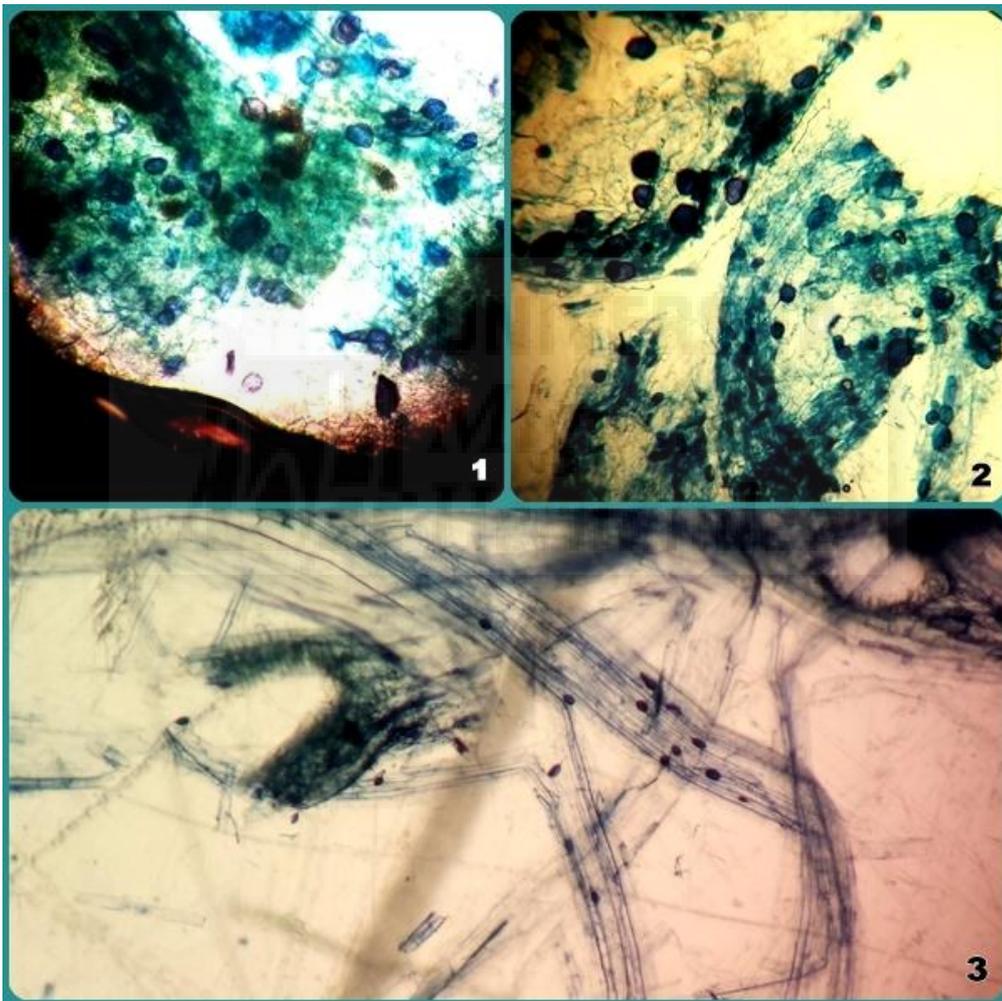


Figura 14: Vista microscópica (1,2) y estereomicroscópica (3) de raíces micorrizadas. 1. *Ononis tridentata*, 2. *Herniaria fruticosa*, 3. *Helianthemum squamatum*.

Se ha ampliado notablemente el rango de las especies de gipsófitos de las que se conoce su condición micorrícica ya que algunas especies como, *Frankenia thymifolia*, *Sedum gypsicola*, *Teucrium balthazaris* no se habían estudiado hasta el presente trabajo. Además, según la revisión bibliográfica realizada, y las bases de datos consultadas (Wang and Qiu, 2006, Hempel et al. 2013- MycoFlor database), los gipsovagos *Helianthemum lavandulifolium*, *Helianthemum viscarium*, *Limonium caesium*, *Limonium thiniense*, *Plantago albicans*, *Stipa offneri* se estudian por su condición micorrícica por primera vez en este trabajo.

Para cumplir con los objetivos de la hipótesis planteada en éste estudio se han realizado los análisis estadísticos presentados a continuación:

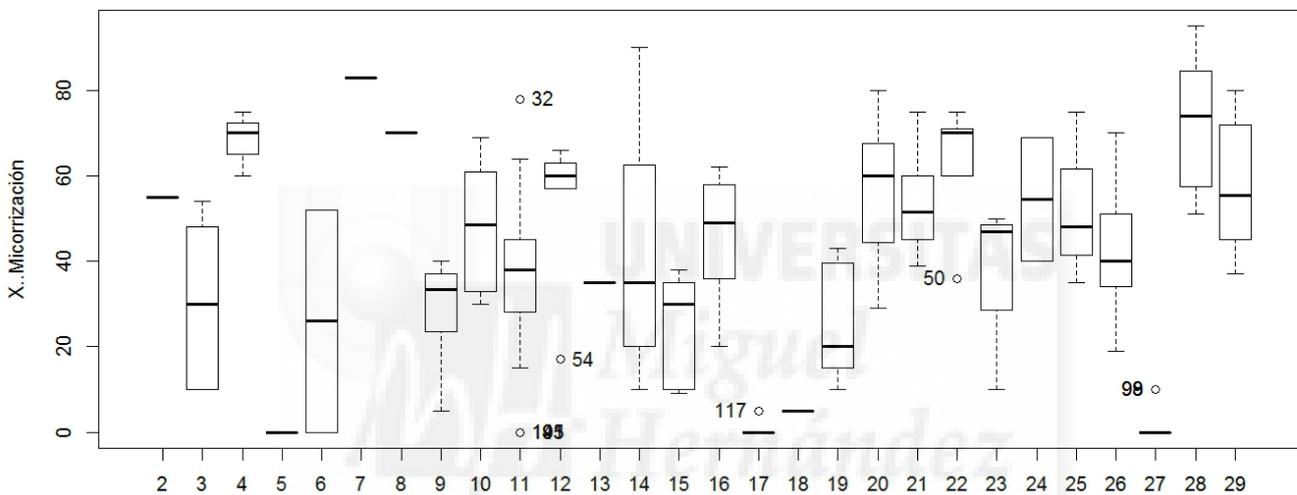
Primeramente, se comprobó la normalidad/no normalidad de los datos para decidir el análisis a utilizar (análisis de la varianza ANOVA o test de Kruskal-Wallis) Para ello se realizó un test de normalidad se Shapiro-Wilk, el cual nos permite conocer si el porcentaje de colonización micorrícica calculado sigue una distribución normal o no. El p-valor obtenido tras el test es 0.0003699, por lo que es significativo, esto es, hay diferencias que no son normales y, por tanto, no hay normalidad.

#### 4.1.- COLONIZACIÓN MICORRÍCICA SEGÚN LA ESPECIE Y FAMILIA TAXONÓMICA

Para determinar la condición micorrícica y el grado de colonización en función de las especies vegetales estudiadas se ha realizado una prueba H de Kruskal-Wallis que sirve para comparar más de dos grupos independientes, como el tamaño muestral es mayor a 5, el estadístico H sigue una distribución *chi-squared*  $\chi^2$ . La hipótesis nula afirmarí que no hay diferencias en el % de colonización micorrícica entre las diferentes especies.

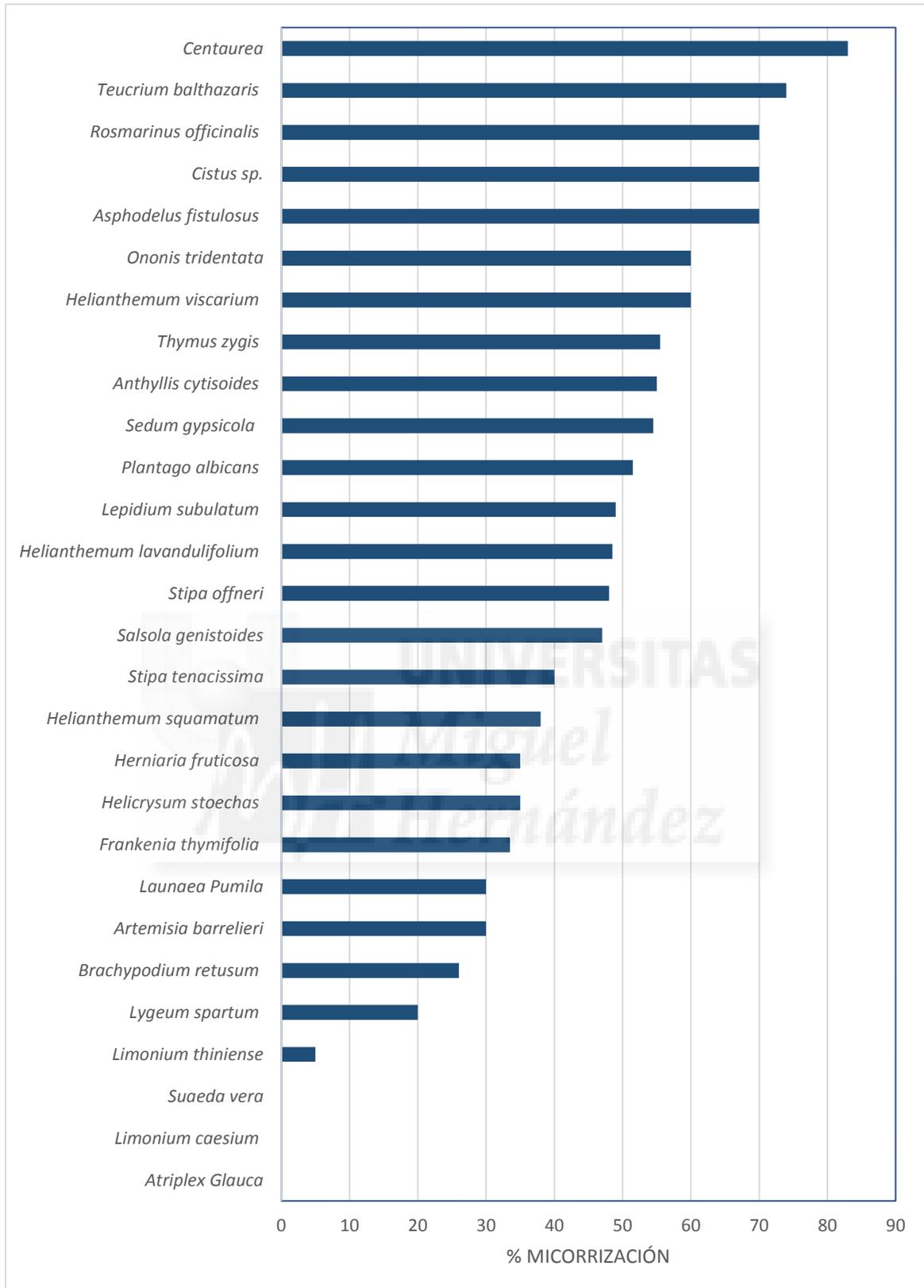
Al hacer la prueba con Rstudio obtenemos un p-valor de  $4,994 \times 10^{-11}$  (menor a 0,05) por lo que rechazamos la hipótesis nula de que no hay diferencias entre el % micorrización de las distintas especies estudiadas.

Como se puede comprobar en la gráfica 1, casi todas las especies difieren mucho en su porcentaje de infección por HMA. También puede observarse que la media de muchas de las especies se sitúa entre el 30 y el 55%.



Gráfica 1: Diagrama de caja que representa el porcentaje de colonización micorrícica en 28 especies de suelos yesíferos. Leyenda: 2: *Anthyllis cytisoides*, 3: *Artemisia barrelieri*, 4: *Asphodelus fistulosus*, 5: *Atriplex glauca*, 6: *Brachypodium retusum*, 7: *Centaurea sp.*, 8: *Cistus sp.*, 9: *Frankenia thymifolia*, 10: *Helianthemum lavandulifolium*, 11: *Helianthemum squamatum*, 12: *Helianthemum viscarium*, 13: *Helichrysum stoechas*, 14: *Herniaria fruticosa*, 15: *Launaea pumila*, 16: *Lepidium subulatum*, 17: *Limonium caesium*, 18: *Limonium thiniense*, 19: *Lygeum spartum*, 20: *Ononis tridentata*, 21: *Plantago albicans*, 22: *Rosmarinus officinalis*, 23: *Salsola genistoides*, 24: *Sedum gypsicola*, 25: *Stipa offneri*, 26: *Stipa tenacissima*, 27: *Suaeda vera*, 28: *Teucrium balthazaris*, 29: *Thymus zygis*.

En la gráfica 2, se representan los valores promedio de porcentaje de micorrización para cada especie estudiada. Como se puede observar, las especies *Suaeda vera*, *Limonium caesium* y *Atriplex glauca* no presentan hongos micorrícicos arbusculares o su porcentaje es tan bajo que no ha quedado representado. Por otra parte, *Teucrium balthazaris*, *Rosmarinus officinalis*, *Ononis tridentata*, *Centaurea* y *Asphodelus fistulosus* son algunas de las especies con mayor porcentaje de colonización micorrícica en sus raíces.



Gráfica 2: Valores promedio de colonización micorrícica en 28 especies de plantas de suelos yesíferos.

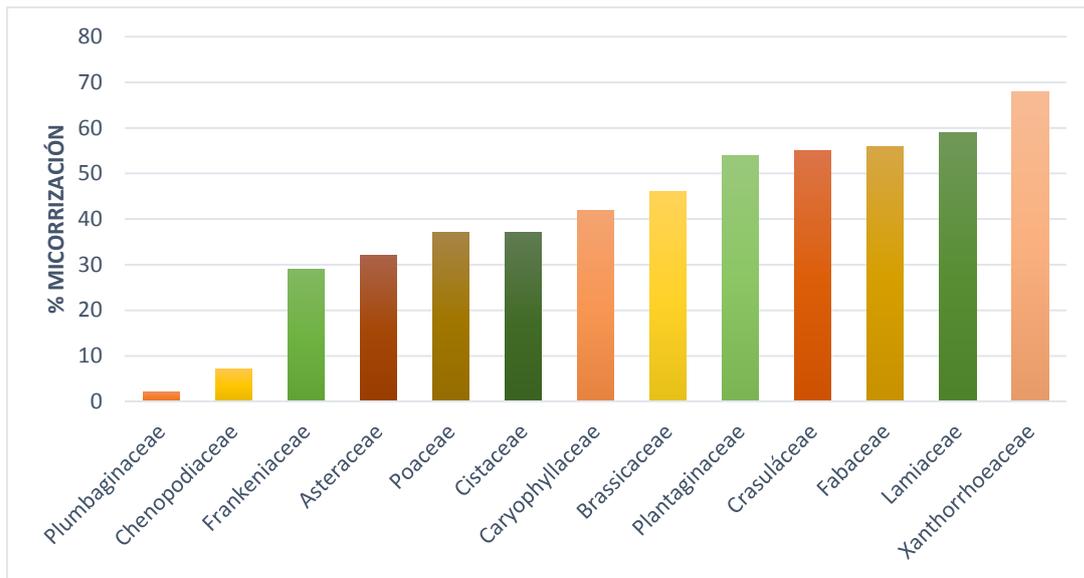
*Centaurea* y *Asphodelus fistulosus* presentan altos porcentajes de colonización, posiblemente sea debido a la propia morfología de su sistema radical con gran proporción de raíces finas, las cuales son más susceptibles al establecimiento de ésta simbiosis. No obstante, solo se disponía de una muestra de *Centaurea*, por lo que sería necesario comprobar este resultado analizando más individuos de esta especie.

*Teucrium balthazaris* es una de las especies con mayores niveles de colonización unido a una baja dispersión de los datos ya que en todas las comunidades en las que se encuentra presenta altos valores de micorrización. Esto resulta interesante puesto que precisamente es uno de los gipsófitos más restrictivos, además de ser el característico de la comunidad vegetal estudiada (Alcaraz et al. 2008).

Por su parte, *Ononis tridentata* presenta valores similares a los recogidos en la bibliografía (véase tabla 1). Ésta especie es el gipsófito más extendido en la Península Ibérica (Martínez-Hernández et al. 2011).

Las plantas que no han presentado micorrizas o su abundancia es tan escasa que no es representativa son *Suaeda vera*, las dos especies del género *Limonium* y *Atriplex glauca*. Estos resultados coinciden con los de López-Sánchez and Honrubia (1992) y las revisiones de Wang and Qiu (2006) y la base de datos Myco Flor (Hempel et al. 2013) donde éstos géneros se describen también como no micorrícicos o micotrofos facultativos, con bajos porcentajes de colonización micorrícica.

Se realizó también un análisis comparativo agrupando las especies analizadas por Familias taxonómicas, para observar las posibles tendencias filogenéticas que muestran los hongos micorrícicos arbusculares para colonizar raíces de especies diferentes (Grafica 3).



Gráfica 3: Colonización Micorrícica en plantas de suelos yesíferos en función de la agrupación filogenética por Familias

Se puede observar que el porcentaje de colonización micorrícica es insignificante en Quenopodiáceas y Plumbagináceas, sin embargo, Xanthorrhoeáceas, Fabáceas, Crasuláceas y Lamiáceas presentan los mayores valores de colonización por HMA.

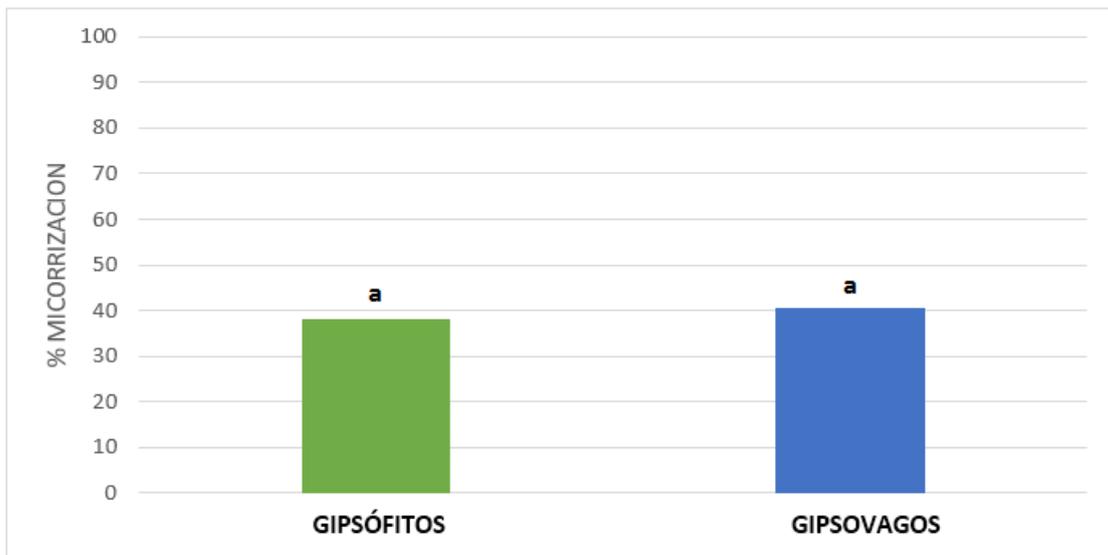
Nuestros resultados coinciden con lo admitido clásicamente para la colonización micorrícica, ya que, a pesar de que el 95% de las especies de Angiospermas pertenece a familias característicamente micotróficas, es decir, que se asocian con hongos, como, leguminosas (Fabáceas) y labiadas (Lamiáceas) que son muy dependientes de la formación de HMA, hay unas pocas familias como las Quenopodiáceas (Amarantáceas), las cuales presentan una baja o nula incidencia de micotrofia (Trappe *et al.*, 1987). Es decir, existe una distribución filogenética de la micotrofia (Wang and Qiu, 2006). No obstante, en nuestro estudio, no todas las Quenopodiáceas han presentado una baja colonización micorrícica. Así, *Salsola genistoides* presenta una media de porcentaje de micorrización del 37%, mientras que *Suaeda vera* o *Atriplex glauca* presentan valores prácticamente nulos. Según Wang and Qiu (2006) esto se explicaría porque algunas especies han perdido su capacidad de formación de micorrizas de forma independiente. Es posible que la capacidad que presentan las micorrizas para incrementar la adquisición de nutrientes por la planta y todos los beneficios aportados comentados anteriormente,

posibiliten que algunas especies de ecosistemas tan estresantes como son los gipsícolas se encuentren asociadas a HMA, aun cuando pertenezcan a familias taxonómicas que normalmente no establecen esta simbiosis. Por otro lado, la presencia de sistemas radicales muy ramificados y con gran cantidad de pelos radicales que permiten la absorción de nutrientes, como en *Suaeda vera* es una alternativa genética que puede explicar la evolución hacia la no micotrofia.

Estos resultados son muy interesantes, ya que, de las 28 especies muestreadas, 25 de ellas y pertenecientes a las 13 familias estudiadas, presentan colonización micorrícica en mayor o menor grado.

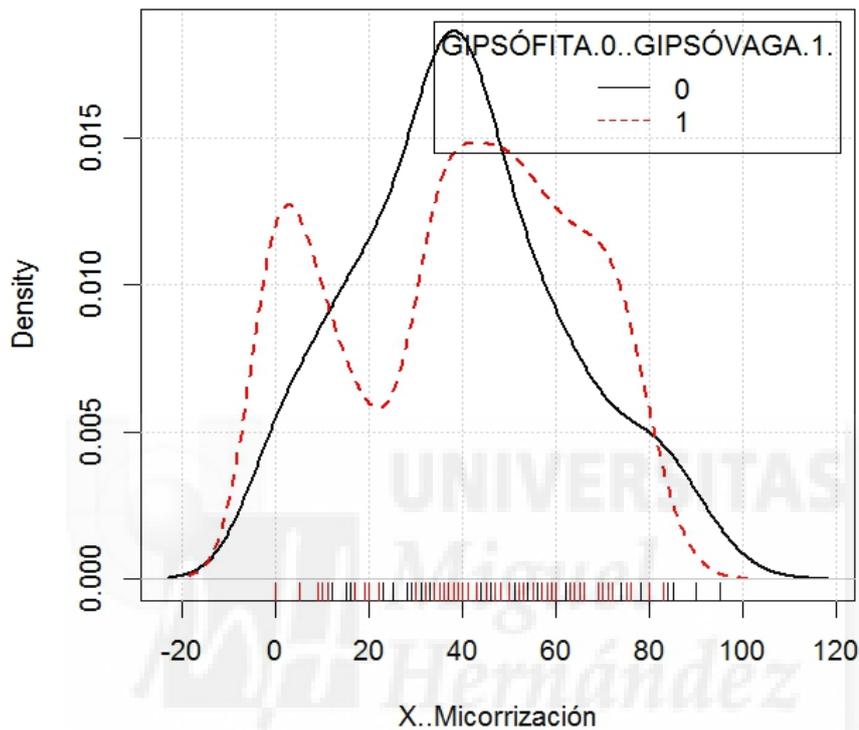
#### 4.2.- COLONIZACIÓN MICORRÍCICA Y FUNCIONALIDAD DE LA PLANTA

Con el objetivo de detectar las posibles diferencias entre gipsófitos y gipsovagos en cuanto a colonización micorrícica se realizó un test de Kruskal-Wallis:  $\chi^2 = 0.018511$ , grados de libertad = 1, p-valor = 0,8918 (mucho mayor a 0,05), que puso de manifiesto que no hay diferencias significativas entre los 2 grupos funcionales de plantas (Gráfica 4). Para comprobar este resultado se ha realizado de igual modo un modelo lineal generalizado, GLM donde se ha constatado lo anterior, ya que el modelo solo explicaría un 1% de los datos.



Gráfica 4: Valores promedio de colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en función de su gipsofilia (gipsófitos-especialistas, gipsovagos-generalistas). Letras diferentes indican diferencias significativas.

Tal como mostró el análisis de densidad de kernel se ha comprobado que la mayoría de los gipsófitos tienen un porcentaje de infección por hongos micorrícicos del 40% mientras que en los gipsovagos las fluctuaciones son mayores, con mucha densidad de valores entre el 40 y el 60 %, pero también una gran cantidad en 0%. (Grafica 5).



Gráfica 5: Análisis de Kernel de densidad. En las abscisas el porcentaje de micorrización, en las ordenadas la densidad de plantas que representarían ese porcentaje.

Contrariamente a nuestra hipótesis, no se han encontrado diferencias significativas entre gipsófitos y gipsovagos. Este resultado es interesante y novedoso, ya que en el único trabajo anterior al respecto (Palacio *et al.* 2012) los resultados indicaban que los gipsovagos tienden a estar más fuertemente micorrizados que los gipsófitos, siendo estas diferencias muy significativas. La explicación a este hecho fue que la mayor capacidad que presentaban los gipsovagos a formar micorrizas podría ser un mecanismo para éstas especies no especializadas a tolerar las deficiencias de nutrientes y agua típicas en suelos de yeso, sin embargo, en el estudio las diferencias

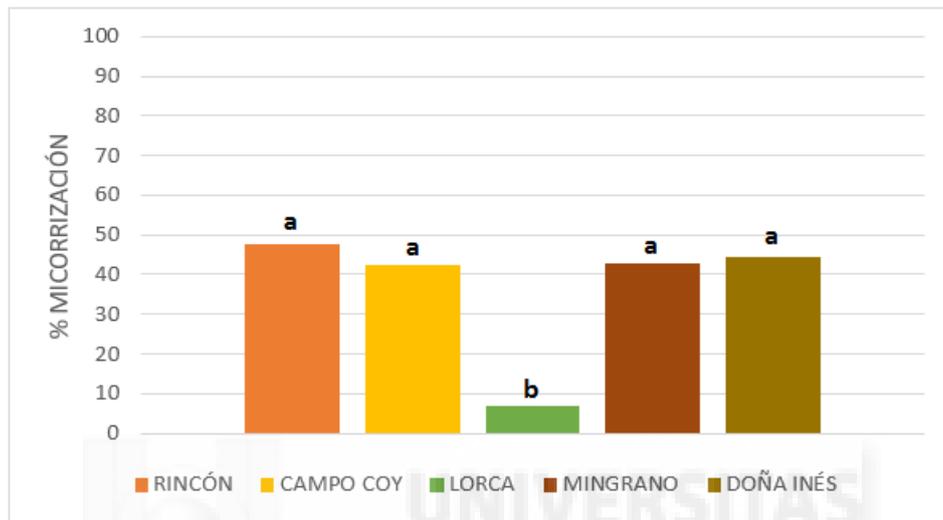
eran significativas sólo cuando *Artemisia herba-alba* no era incluida en el análisis, por lo que no parece ser un resultado muy general. Además, analizaron tan solo 6 especies de cada característica funcional y un total de 56 especies, mientras que en el presente estudio se han muestreado 9 especies de gipsófitos y 19 de gipsovagos con un total de 225 plantas procedentes de diferentes localidades, lo que aporta rigor a nuestros resultados. También cabe comentar que precisamente, algunas de las especies con menor porcentaje de HMA en sus raíces han resultado ser gipsovagos, como *Suaeda vera* o *Atriplex glauca*, mientras que muchos de las gipsófitos presentan valores muy altos de colonización como *Teucrium balthazaris* y *Ononis tridentata*.

Aunque recientemente se están realizando estudios que intentan explicar la relación entre micorrización y características funcionales de la planta, los resultados son controvertidos y no concluyentes. Alguacil *et al.* (2012) comprobaron en suelos de yesos que el carácter perenne/anual de la planta hospedadora influía en la diversidad de la comunidad de hongos arbusculares, con mayor diversidad en las perennes y Torrecillas *et al.* (2014) encontraron comunidades de hongos más diversas en gipsovagos, sugiriendo que éstos necesitan obtener un mayor beneficio de la asociación micorrícica. Este trabajo se ha centrado exclusivamente en nivel de colonización; son necesarios estudios posteriores que analicen las comunidades de hongos, con la finalidad de dilucidar posibles diferencias.

#### 4.3.- COLONIZACIÓN MICORRÍCICA Y ESTADO DE CONSERVACION DE LA COMUNIDAD VEGETAL.

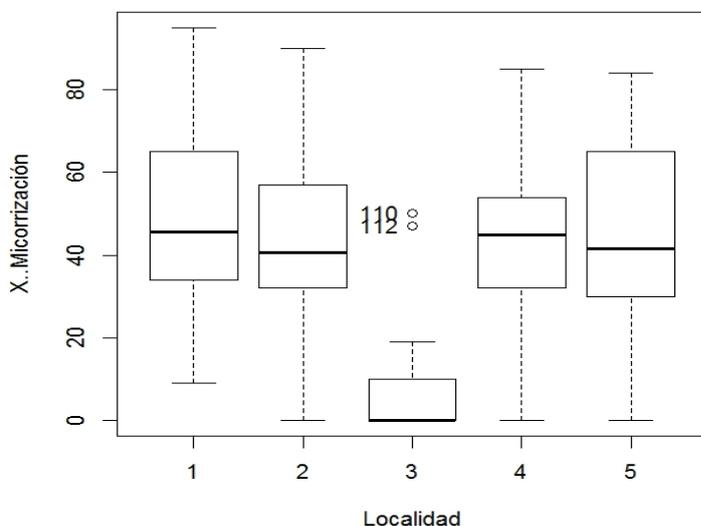
La localidad Lorca, que presenta un mayor deterioro de la comunidad vegetal es donde se obtienen menores valores de colonización micorrícica en conjunto. Para constatar la prevalencia micorrícica en la comunidad vegetal con diferentes estados de conservación se realizó un test de Kruskal-Wallis cuyo p-valor en este caso ha sido igual a  $7,98 \times 10^{-11}$ , por lo que hay diferencias significativas entre las comunidades estudiadas. El GLM realizado también nos muestra la gran diferencia de la Localidad de Lorca (L) con un valor bajísimo del p-valor:  $< 2 \times 10^{-16}$ . Como se observa en la gráfica 6,

ésta localidad presenta una media de colonización micorrícica en torno al 7% en contraste con los demás que se sitúan alrededor del 40%. La localidad del Rincón también muestra diferencias significativas, siendo ésta la que presenta mayor colonización en sus plantas.



Gráfica 6: Colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en localidades con distinto grado de conservación. Letras diferentes indican diferencias significativas.

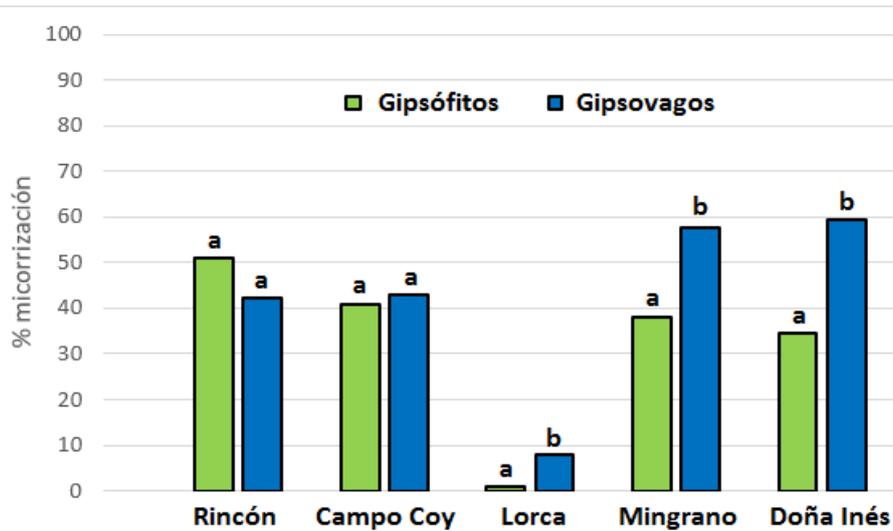
En el diagrama de caja correspondiente a estos datos (gráfica 7) se puede observar que el rango intercuartílico y la mediana de las localidades (R), (C), (M) e (I) es muy parecido, mientras que la mediana de (L) es 0.



Gráfica 7: Diagrama de caja de colonización micorrícica en plantas de suelos yesíferos en localidades con distinto grado de conservación (1: el Rincón; 2: Campo Coy; 3: Lorca; 4: El Mingrano; 5: Doña Inés).

Como se puede observar en los resultados, aparece una clara diferencia en el establecimiento de la simbiosis en las plantas hospedantes de las diferentes localidades estudiadas. Como se ha comentado anteriormente, la comunidad de Lorca es la que presenta mayor nivel de degradación (véase figura 6). El grado de degradación de la comunidad parece influir en el potencial de inóculo micorrícico del suelo y por tanto en la intensidad de colonización micorrícica. Además, ésta localidad está caracterizada por la presencia de especies pioneras, las cuales son más resistentes a las perturbaciones y que parecen ser muy facultativas a la micorrización como las Quenopodiáceas. Las perturbaciones en ecosistemas semiáridos disminuyen la densidad y diversidad de las poblaciones de los hongos micorrícicos. Sin embargo, estos propágulos no desaparecen por completo (Cuenca *et al.*, 2007; Barea *et al.*, 2011) este hecho explicaría la razón por la cual algunas de las plantas como *Salsola genistoides* y *Lygeum spartum* presentan HMA en sus raíces en la localidad de Lorca.

Cuando se consideran las diferencias entre gipsófitos y gipsovagos por localidades (Gráfica 8) aparecen resultados muy interesantes. Se puede observar que las diferencias entre ambos grupos funcionales no son muy marcadas en las localidades con la comunidad bien conservada como el Rincón y el Campo Coy. Sin embargo, sí lo son en las localidades degradadas como el Mingrano (p-valor 0,009683) y Doña Inés (p-valor 0,0002832). Esto coincide con la hipótesis de Palacio *et al.* (2012), es decir, en condiciones de fuerte estrés, las micorrizas ayudarían a los gipsovagos no especializados a mejorar la absorción de agua y nutrientes, lo que puede explicar los mayores niveles de micorrización entre los gipsovagos en las localidades degradadas. En Lorca, con una intensa degradación, predominan las especies vegetales no especialistas (o gipsovagos), y en este caso, con muy bajos niveles de micorrización. Esto confirma la teoría general expuesta por Hempel (2013) en un estudio global, donde se afirma que en condiciones de intenso estrés predominan las plantas no micotrofas tolerantes al estrés, mientras que las especies competidoras son más frecuentemente obligadas micotrofas.



Gráfica 8: Comparación de la colonización micorrícica entre gipsófitos y gipsovagos por localidad. Letras diferentes en cada localidad indican diferencias significativas.

#### 4.4.- DISCUSIÓN GENERAL

En resumen, el estado de conservación de la comunidad vegetal parece determinar en un primer lugar el grado de micorrización de la comunidad vegetal en su conjunto. En nuestra hipótesis, planteamos la posibilidad de la existencia de diferencias de colonización por hongos MA entre especies generalistas y especialistas de ecosistemas de yesos. En un sentido general, no hemos observado tales diferencias, pero, como un segundo filtro, el nivel de micorrización sí está determinado por esta característica funcional de la planta en las localidades degradadas, con mayores niveles de colonización en los gipsovagos. Además, la colonización micorrícica está condicionada por una perspectiva filogenética, es decir depende de la especie hospedadora y su pertenencia a una determinada Familia.

## 5.- CONCLUSIONES Y PROYECCIÓN FUTURA

De acuerdo a los objetivos expuestos inicialmente, se han obtenido las siguientes conclusiones:

- Se ha ampliado el rango de las especies de gipsófitos y gipsovagos de las que se conoce su condición micorrícica: *Frankenia thymifolia*, *Sedum gypsicola*, *Teucrium balthazaris*, *Helianthemum lavandulifolium*, *Helianthemum viscarium*, *Limonium caesium*, *Limonium thiniense*, *Plantago albicans*, *Stipa offneri* se estudian por primera vez en este trabajo.
- La localidad, que condiciona el grado de degradación y el estado de conservación de la comunidad vegetal, parece determinar el nivel de micorrización de la comunidad vegetal en su conjunto, con menores valores en las comunidades más degradadas.
- De forma global no hay diferencias significativas entre gipsófitos y gipsovagos para el establecimiento de la simbiosis con hongos micorrícicos. Sin embargo, en las comunidades degradadas, los gipsovagos presentan mayores niveles de micorrización que los gipsófitos, lo que se explicaría por la necesidad de obtener un mayor beneficio de la simbiosis.
- El nivel de micorrización se puede explicar también desde una perspectiva filogenética, esto es, depende de la especie hospedadora y su pertenencia a una determinada Familia taxonómica. Algunas especies de la familia Amarantaceas, como *Suaeda vera* o *Atriplex glauca* y Plumbagináceas como *Limonium* sp. presentaron valores de colonización próximos a cero.

**Proyección futura:** se considera oportuna la realización de más estudios sobre colonización radical y diversidad de hongos micorrícicos arbusculares en ecosistemas de suelos de yeso para corroborar los resultados del presente trabajo y dilucidar pautas de distribución de las especies de hongos arbusculares.

## 6.- BIBLIOGRAFIA

**Alcaraz F., Barreña J. A., Clemente M., González A.J, López J., Rivera D., Rios, S.** 2008. Manual de interpretación de los hábitats naturales y seminaturales de la Región de Murcia. Tomo 2. Hábitats costeros y vegetaciones halofíticas. DGMM. Consejería de Desarrollo Sostenible y Ordenación del Territorio. Región de Murcia.

**Alguacil M.M., Roldán A., Torres P.** 2009 a. Complexity of semiarid gypsophilous shrub communities mediates the AMF biodiversity at the plant species level. *Microbial Ecology* 57(4):718-727.

**Alguacil M.M., Roldán A., Torres M.P.** 2009 b. Assessing the diversity of AM fungi in arid gypsophilous plant communities. *Environmental Microbiology* 11(10): 2649-2659.

**Alguacil M.M., Torres M.P., Torrecillas E., Díaz G., Roldán, A.** 2011. Plant type differently promote the arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity in the rizosphere after revegetation of a degraded, semiarid land. *Soil Biology and Biochemistry* 43: 167-173.

**Alguacil M.M., Torrecillas E., Roldán A., Díaz G., Torres P.** 2012. Perennial plant species from semiarid gypsum soils support higher AMF diversity in roots than annuals. *Soil Biology and Biochemistry* 49:132-138.

**Barea J.M., Palenzuela J., Cornejo P., Sánchez-Castro I., Navarro-Fernández C., López-García A., Estrada B., Azcón R., Ferrol N., Azcón-Aguilar C.** 2011. Ecological and functional roles of mycorrhizas in semi-arid ecosystems of Southeast Spain. *J. Arid Environ* 75 : 1292-1301.

**Cuenca G., Cáceres A., Oirdobro G., Hasmy Z., Urdaneta, C.** 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia* 32(1): 23-29.

**Escudero A.** 2009. 1520 Vegetación gipsícola mediterránea (Gypsophiletalia) (\*). En: VV.AA., Bases ecológicas preliminares para la conservación de los tipos de hábitat de interés comunitario en España. Madrid: Ministerio de Medio Ambiente, y Medio Rural y Marino. 78 p.

**Escudero A., Palacio S, Maestre F.T, Luzuriaga, A.L.** 2015. Plant life on gypsum: a review of its multiple facets. *Biol. Rev*, 90: 1-18.

**Giovannetti M., B. Mosse.** 1980.- An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular micorrhizal infection in roots. *New Phytologist* 84: 489-499.

**Hart M.M., Klironomos J.N.** 2002. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi and ecosystem functioning. In: M.G.A. van der Heijden and I. Sanders (Eds.) *Mycorrhizal Ecology*. Ecological Studies, Vol. 157. Springer-Verlag, Berlin. Pg 225-242.

**Hempel S, Götzenberger L, Kühn I, Michalski SG, Rillig MC, Zobel M, Moora M.** 2013. Mycorrhizas in the Central European flora: relationships with plant life history traits and ecology. *Ecology*.94(6):1389-99

**Lekberg Y., Gibbons S.M., Rosendahl S., Ramsey P.W.** 2013. Severe plant invasions can increase mycorrhizal fungal abundance and diversity. *The ISME Journal* 7: 1424-1433.

**López-Sánchez M.E., Honrubia M.** 1992. Seasonal variation of vesicular-arbuscular mycorrhizae in eroded soils from southern Spain. *Mycorrhiza* 2 (1): 33-39

**Martínez-Hernandez F., Perez-García F.J., Garrido-Becerra J.A., Mendoza-Fernandez A.J., Medina-Cazorla J.M., Martínez-Nieto M.I., Calvente M.E.M., Poveda J.F.M.** 2011. The distribution of Iberian gypsophilous floras a criterion for conservation policy. *Biodiversity Conservacion* 20: 1353–1364.

**Mota J.F., Sánchez-Gómez P., Guirado J.S.** 2011. Diversidad vegetal de las yeseras ibéricas. El reto de los archipiélagos edáficos para la biología de la conservación. ADIF-Mediterráneo Asesores Consultores. Almería. 636 pp.

**Opik M., Zobel M., Cantero J.J., Davison J., Facelli J.M., Hiiesalu I., Jairus T., Kalwij J.M., Koorem K., Leal M.E., Liira J., Metsis M., Neshataeva V., Paal J., Phosri C., Põlme S., Reier Ü., Saks Ü., Schimann H., Thiéry O., Vasar M., Moora M.** 2013. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 23: 411-430.

**Palacio S., Johnson D., Escudero A., Montserrat-Martí G.** 2012. Root colonisation by AM fungi differs between gypsum specialist and non-specialist plants: links to the gypsophile behaviour. *Journal of Arid Environments* 76: 128-132.

**Phillips J.M., Hayman D.S.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment for infection. *Transaction of the British Mycological Society* 55: 157-160.

**Torrecillas E., Alguacil M.M., Roldán A., Díaz G., Montesinos A., Torres M.P.** 2014. Modularity reveals the tendency of arbuscular mycorrhizal fungi to interact differently with generalist and specialist plant species in gypsum soils. *Applied and Environmental Microbiology* 17: 5457-5466

**Trappe J.M.** 1981. Mycorrhizae and productivity of arid and semiarid rangelands. En: *Advances in Food-Producing Systems for Arid and Semiarid Lands*. Manassah JM, EJ Briskey (Eds.). New York: Academic Pres. Pág 581–600.

**Van der Heijden M.G.A, Streitwolf-Engel R., Riedl R., Siegrist S., Neudecker A., Ineichen K., Boller T., Wiemken A., Sanders I.R.** 2006. The mycorrhizal contribution to plant productivity, plant nutrition and soil structure in experimental grassland. *New Phytologist* 172: 739-752.

**Vogelsang K. M., Reynolds H. L., Bever J. D.** 2006. Mycorrhizal fungal identity and richness determine the diversity and productivity of a tallgrass prairie system. *New Phytologist* 172(3): 554-562.

**Wang B., Qiu YL.** 2006. Phylogenetic distribution and evolution of mycorrhizas in land plants. *Mycorrhiza* 16(5):299-363.

