



Evaluación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rehabilitación ecológica de ecosistemas con actividad minera

Rosa Arancibia¹ , Manuel Flores^{1,*} , Tatiana Cabrera² , Juan Sanchez Beiza³ , Javier Obando⁴

(1) Escuela de Ciencias Agrícolas y Veterinarias, Universidad Viña del Mar, Avenida Agua Santa s/n, Valparaíso, Chile.

(2) Escuela de Ciencias, Universidad Viña del Mar, Avenida Agua Santa s/n, Valparaíso, Chile.

(3) Minera Anglo American Sur, División el Soldado, Región de Valparaíso, Chile.

(4) Escuela de Ingeniería en Agronomía, Campus Tecnológico Local San Carlos, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Costa Rica.

*Autor de correspondencia: M. Flores [manuel.flores@uvm.cl]

> Recibido el 08 de octubre de 2021 - Aceptado el 02 de mayo de 2022

Como citar: Arancibia, R., Flores, M.E., Cabrera, T., Sanchez Beiza, J., Obando, J. 2022. Evaluación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rehabilitación ecológica de ecosistemas con actividad minera. *Ecosistemas* 31(2): 2304. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2304>

Evaluación de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en la rehabilitación ecológica de ecosistemas con actividad minera

Resumen: En los ecosistemas forestales nativos, los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) cumplen una función de interfase suelo – planta, ayudando a la adaptación de las especies vegetales ante situaciones de estrés. En Chile existe escasa información en el bosque esclerófilo de la zona central, por lo que se propuso identificar y cuantificar las esporas de HMA en suelo rizosférico para las especies *Beilschmiedia miersii*, *Peumus boldus*, *Citronella mucronata* y de un sitio sujeto a rehabilitación ecológica debido a la acción minera, denominado "El Gallo", presentes en la cordillera de la costa de la región de Valparaíso. Se colectó muestras de la rizósfera de las tres especies y del sitio en rehabilitación y se sometieron a análisis morfométrico; tamizado a 63, 149 y 297 μm y filtrado, con conteo de esporas en 50 g de suelo rizosférico en invierno (agosto de 2019) y verano (enero de 2020). Se identificó los géneros *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. y se determinó que la densidad de esporas HMA/ 50 g de suelo en el sitio El Gallo en tamizado a 149 y 297 μm fue menor con respecto de la densidad que presentaron las muestras de suelo rizosférico de las tres especies esclerófilas. Estos resultados establecen un valor de referencia respecto a la densidad de esporas presentes para la gestión de mejoras en la cantidad y diversidad de HMA en un manejo de sucesión de especies del bosque nativo esclerófilo.

Palabras clave: bosque esclerófilo; estrés hídrico; hongos micorrízicos arbusculares; impacto ambiental; minería

Evaluation of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) in the ecological rehabilitation of ecosystems with mining activity

Abstract: In native forest ecosystems, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) play a role in the soil-plant interface, helping plant species to adapt to stressful situations. In Chile there is a lack of information about the sclerophyllous forest of the central zone, so in this article, we identify and quantify AMF spores in rhizospheric soil for the species *Beilschmiedia miersii*, *Peumus boldus* and *Citronella mucronata* and a site subject to ecological rehabilitation due to mining actions called "El Gallo", located in the coastal mountain range in the Valparaíso region. Rhizosphere samples of the three species and the site under rehabilitation were collected and subjected to morphometric analysis; sieving at 63, 149 and 297 μm and filtering, with spore counting in 50 g of rhizospheric soil in winter (August 2019) and summer (January 2020). The genera *Glomus* sp. and *Acaulospora* sp. were identified and it was determined that the density of AMF spores/ 50 g of soil at the El Gallo area in sieves of 149 and 297 μm was lower in comparison to the density presented by the rhizospheric soil samples of the three sclerophyllous species. These results establish a reference value with respect to the density of spores present for managing and improving the quantity and diversity of AMF in a sclerophyllous native forest species succession management.

Keywords: arbuscular mycorrhizal fungi; environmental impact; mining; sclerophyllous forest; water stress

Introducción

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) pertenecientes al phylum Glomeromycota subphylum Glomeromycotina (Shubler y Walker 2010), son organismos simbioses obligados en aproximadamente el 82% de las plantas terrestres (Davinson et al. 2015), aumentando la aptitud de las plantas a diversas condiciones ambientales. Esta simbiosis permite reducir el estrés abiótico, mejorando la agregación del suelo, el flujo de agua, el transporte bidireccional, la absorción de nitrógeno y fósforo de las plantas y la

tolerancia al estrés por sequía (Pozo et al. 2015) y biótico de las plantas como la resistencia al ataque de patógenos (Zhang et al. 2010), favoreciendo en conjunto el crecimiento de la planta hospedante. A nivel de las raíces, los HMA reciben a cambio carbohidratos (Van der Heijden et al. 2015; Delavaux et al. 2017; Saparrat et al. 2020). Esta modalidad de interacción planta-hongo es una estrategia que permite evitar los efectos negativos provocados por diversos tipos de estrés propios del ambiente, así como los impactos antrópicos como es el caso de la producción de cobre en un hábitat de bosque nativo esclerófilo (Brundrett y Tedersoo 2018; Dobss y Miranda 2019).

En los ecosistemas vegetales, los HMA forman la interfase planta-suelo y se asocian a las plantas intraradicalmente a través de hifas cenocíticas, arbuscúlos y vesículas, mientras que extraradicalmente lo hacen formando micelio y esporas multinucleadas, (Beaudet et al. 2013). Las esporas son estructuras de sobrevivencia en raíces que en el suelo forman un banco dinámico que responde a las condiciones ambientales de la rizósfera (Peterson y Massicotte 2004). Al cambiar las condiciones del suelo (químicos, físicos y biológicos), se producen variaciones en la población de esporas de los HMA y se presentan como estructuras de resistencia a condiciones adversas (Marín et al. 2017). Los HMA amplían la interfaz entre las plantas y el suelo contribuyendo a la absorción de minerales como N, P, Cu y Zn. Cuando estos nutrientes se encuentran en altos niveles, los HMA son capaces de reducir su toxicidad para la planta. En el caso del cobre, es compartimentalizado en las esporas (Cornejo et al. 2013), lo que permite su presencia en ambientes cupríferos, siendo importante al momento de seleccionar los HMA para programas de rehabilitación de ecosistemas. En el presente trabajo se considera que el banco de esporas de los HMA está formado por una diversidad de géneros que se encuentran asociados a las especies esclerófilas de la cordillera de la costa de la región de Valparaíso, en poblaciones variables que se ajustan a las condiciones adversas del ambiente. Por lo tanto, el objetivo del presente trabajo fue identificar y cuantificar las esporas de HMA de suelo rizosférico de las especies nativas *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* (Boldo, Belloto del norte y Naranjillo, en nombre vernácula, respectivamente) y del área con alteración antrópica “El Gallo”, para su uso en rehabilitación ecológica en ecosistemas con actividad minera.

Material y Métodos

Área de estudio

La “Quebrada el Gallo” se encuentra ubicada al noreste de Valparaíso de la zona central de Chile, entre las latitudes Norte -32.6383170, latitud Sur -71.1179190, cordillera de la costa, comuna de Nogales, sector el Melón (Fig. 1). Esta área se caracteriza por poseer un bosque nativo denominado esclerófilo o de hoja dura,

resistente a los periodos de sequía. La clasificación bioclimática de estos bosques se reparte entre los pisos termomediterráneo y mesomediterráneo con macrobioclimas de secos a subhúmedos (Amigo y Flores-Toro 2012). Dentro de la biodiversidad del bosque, se presenta una diversidad microbiológica que contienen a las micorrizas (Bueno et al. 2017). En Chile, Castillo et al. (2016), realizaron un levantamiento de las 57 especies de HMA en la zona centro-sur del país, mientras autores como Benedetti et al. (2018) han estudiado los HMA asociados a especies vegetales nativas como *Peumus boldus*.

El clima de la localidad de Nogales presenta una marcada oscilación térmica, una temperatura media anual de 14.4 °C (máxima de 26.5 °C y mínima de 4.5 °C), y precipitaciones anuales cercanas a los 300 mm, concentradas en el invierno. En las zonas montañosas, los fondos de quebrada mantienen un microclima más húmedo debido a la presencia de cursos de agua (Mansilla 2007). Las condiciones climáticas presentan una disminución permanente de las precipitaciones, con una sequía que se ha extendido por 12 años. Para el año 2019, las precipitaciones alcanzaron los 90 mm (Dirección Meteorológica de Chile 2021). Los suelos de la comuna de Nogales se caracterizan por su origen aluvial granítico, de deposición intermedia ondulado a quebrado, con un plano depositacional con pendiente de 6 a 10% y un drenaje externo rápido e interno imperfecto y de erosión moderada (CIREN 2019).

En esta área se realizan faenas mineras de extracción y producción de cobre. Datos de SERNAGEOMIN (2021), señalan que en el año 2020 la región de Valparaíso representó el 3.5% de la superficie total de concesiones mineras de exploración y el 3.6% de explotación del país.

Recolección de muestras de suelo

Para la determinación de la población de esporas en el suelo, se consideraron seis unidades de árboles de *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata* para recolectar suelo de la rizosfera, el cual se realizó a inicios de primavera (finales de agosto 2019) y en verano (inicios de enero 2020). Además, en este estudio se consideró seis repeticiones para el caso de la rizosfera (arbórea y arbustiva) del área en fase inicial de rehabilitación “El Gallo”.

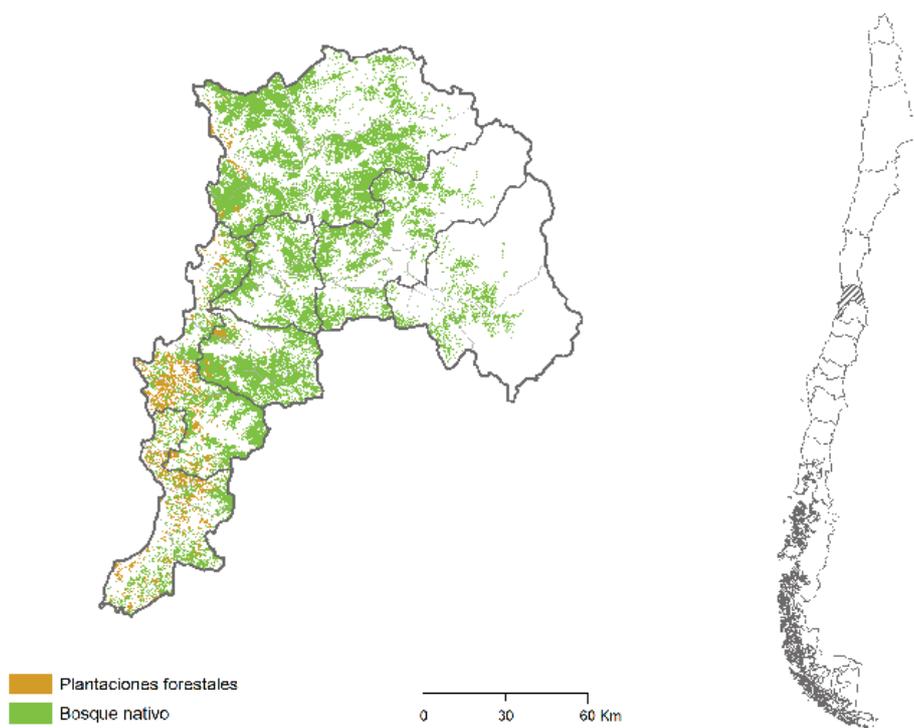


Figura 1. Ubicación geográfica del bosque nativo correspondiente a la zona de estudio marcada en color azul; región de Valparaíso, Chile. (Fuente: CIREN 2019).

Figure 1. Geographical location of the native forest corresponding to the study area marked in blue; Valparaíso region, Chile. (Source: CIREN 2019).

Para cada muestra de suelo rizosférico/árbol, se procedió a coleccionar varias submuestras al azar circundante a los árboles (10 submuestras de 200 g). Para cada punto de extracción, se despejó un área de 40×40 cm, removiendo la hojarasca (1-5 cm) y se realizó la extracción de suelo a una profundidad de 20 cm, donde se encuentran concentradas las raíces.

Las especies *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata*, de donde se extrajeron las muestras de la rizosfera, presentaban alturas promedios de 3.8, 6.7 y 1.8 m y un diámetro promedio del dosel de 3.5, 5.8 y 2 m respectivamente, que se correlacionaría con el desarrollo radicular en profundidad y a una mayor densidad de raíces, a diferencia del sitio El Gallo, donde la vegetación dominante está formada por gramíneas y dicotiledóneas rastreras y arbustivas de menos de 1.5 m de altura, con una cobertura del 30-40% en promedio.

Las submuestras de suelo fueron tamizadas para remover piedras, raíces gruesas, larvas de insectos entre otros y mezcladas conformando una muestra compuesta de 2 kg, dispuesta en una bolsa de papel y externamente con bolsa de polietileno, identificada con un código que incluye el lugar, especie/sitio y fecha.

Caracterización fisicoquímica de los suelos

La recolección de muestras para la caracterización fisicoquímica del suelo (pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, N, P, K, Ca, Mg, Na, CIC, densidad aparente y retención de humedad) se realizó en enero del año 2020, con el protocolo de muestreo antes descrito. Se definió cuatro muestras de suelo de la rizosfera para las especies del bosque esclerófilo y del sitio El Gallo (4 tratamientos). En cada muestra se consideró 6 submuestras o repeticiones, las cuales fueron analizadas por el laboratorio AGROLAB Ltda., por medio de las metodologías descritas por [Blake y Hartge \(1986\)](#), recomendadas por la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo.

Método de extracción y cuantificación de esporas de micorrizas

El método empleado consideró cuatro submuestras de 50 g de suelo rizosférico por cada muestra (*Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y el sitio El Gallo) por cada tamiz en agosto y en enero, respectivamente. Para el aislamiento de esporas, se combinó el método en tamices de 63, 149 y 297 µm, seguido del método de gradiente de centrifugación con sacarosa al 80% durante 3 minutos a 2640 rpm y luego filtrado en una membrana de 0.45 µm. El método de tamizado y decantación en húmedo permitió la extracción de esporas y el método de centrifugación en gradiente de sacarosa se empleó para la separación de las esporas del suelo y del material orgánico, facilitando el aislamiento. Luego del filtrado con una membrana filtro Merck Millipore 0.45 µm cuadrado/tamiz, las esporas se mantuvieron a una temperatura de 4°C para su posterior conteo e identificación en forma gradual ([Sieverding 1983](#); [Brundrett et al. 1996](#)).

El conteo de las esporas se realizó en cada membrana cuadrada con lupa estereoscópica (40X) y con microscopio óptico Leica® DM500 binocular. La densidad de esporas de los HMA se expresó como el número promedio de esporas/50 g de suelo rizosférico por cada tamiz.

Separación de morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares

Una vez cuantificadas las esporas extraídas para cada muestra, se colocaron en un vidrio reloj para su observación en lupa estereoscopia con la ayuda de una aguja de disección, se reunió los morfotipos de acuerdo con la similitud en forma, color y tamaño de las esporas y se almacenaron a 4°C hasta su análisis morfométrico.

Para determinar la dominancia de los géneros de los morfotipos, se consideró una escala de abundancia de tres niveles (a.- mayor a 25 unidades del morfotipo; b.- entre 11 y 25 unidades del morfotipo y c.- menor a 10 unidades del morfotipo).

Identificación morfológica de las esporas

Para la identificación de los morfotipos de esporas, se realizó un montaje en placa portaobjetos con alcohol polivinílico, ácido láctico glicerol (PVLG) y reactivo de Melzer ([INVAM 2019](#)). Las esporas fueron analizadas para su clasificación a nivel de género mediante el uso de claves taxonómicas y la clave gráfica publicada por la International Culture Collection of Arbuscular Mycorrhizal Fungi ([Schenck y Pérez 1990](#); [INVAM 2019](#)) por medio de su color, tamaño y forma, así como las características de la pared (grosor, color y presencia de ornamentaciones, entre otras).

Análisis estadístico

Sobre el número de esporas obtenidos por tamiz/muestra de 50 g, se realizó la prueba de Shapiro-Wilk para contrastar la normalidad de estos. Para verificar la homocedasticidad se realizó la prueba de Levene. Cuando los datos presentaron normalidad y homocedasticidad se realizó ANOVA de un factor y cuando se reportó diferencia significativa se realizó la prueba de Tukey (nivel de significación ≤ 0.05). Cuando los datos presentaron normalidad, pero no homocedasticidad, se realizó el ANOVA de Welch, que no asume homocedasticidad, y cuando se reportó diferencia significativa se realizó la prueba de Games-Howell (nivel de significación ≤ 0.05) como método post hoc. Cuando los datos no mostraron normalidad, pero sí homocedasticidad, se observó si los grupos presentaban una forma similar de distribución y así cumplir con los supuestos necesarios para realizar la prueba de Kruskal-Wallis. Los análisis fueron realizados con el software IBM SPSS Statistics ([Di Rienzo et al. 2008](#); [Baltarini et al. 2011](#)).

Resultados

Propiedades fisicoquímicas de la rizosfera /tratamiento

A partir de los resultados del análisis de suelo ([Tabla 1](#)), la clase textural para *Beilschmiedia miersii* y *Peumus boldus* se clasifican como franco arenoso, *Citronella mucronata* como franca, mientras que, el sitio El Gallo corresponde a franco arcillosa, que además presenta la mayor densidad aparente entre los tratamientos (1.28 g/cc). El porcentaje de arena es mayor para las muestras provenientes de las especies *Peumus boldus* y *Beilschmiedia miersii*.

La retención de humedad en los tratamientos de *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata* presentaron los mayores valores en capacidad de campo (64.7 y 69.7, respectivamente), mientras que El Gallo presentó los menores valores en retención de humedad (31.4%), capacidad de campo (15.9%) y punto de marchitez permanente (15.5%). El contenido de materia orgánica y los macronutrientes N, P y K del sitio El Gallo fue menor en comparación con los demás tratamientos, lo cual estaría dado por las diferencias en las condiciones micro ambientales y a la condición en rehabilitación del sitio El Gallo debido a su alteración por faenas cupríferas.

Análisis morfométricos de las esporas

Se identificó la morfología las esporas de endomicorrizas de los géneros *Glomus* sp. ([Fig 2; a1 y a2](#)) y *Acaulospora* sp. ([Fig 2; b1 y b2](#)) respectivamente, en cada uno de los tratamientos.

Las características taxonómicas constatadas bajo lupa estereoscópica y microscopio óptico correspondieron a; tamaño de las esporas, color, forma, presencia de hifa de sostén, presencia de células suspensoras y del sáculo esporífero. En mayor proporción se identificó el género *Glomus* sp por sobre el género *Acaulospora* sp.

Cuantificación de esporas

Se aisló esporas de los HMA en todos los tratamientos en ambas fechas de colecta: final de invierno e inicio de primavera (agosto 2019) e inicio de verano respectivamente. Con base en las [Tablas 2 y 3](#), se identificó valores promedio crecientes del número de esporas/50 g en los tamices de 63, 149 y 297 µm, respectivamente. Sin embargo, la mayor abundancia de esporas se obtuvo en el tamizado de 63 µm.

Tabla 1. Análisis físico-químico de los suelos rizosféricos de las especies *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y de la rizósfera del sitio El Gallo.

Table 1. Physical-chemical analysis of rhizospheric soils of *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* and rhizosphere of El Gallo area.

Análisis suelo rizosférico / muestra		<i>Peumus boldus</i>	<i>Beilschmiedia miersii</i>	<i>Citronella mucronata</i>	El Gallo
Propiedades físicas	Unidades				
Clase textural		Franco arenosa	Franco arenosa	Franca	Franco arcillosa
Arena gruesa	(2 - 0.50 mm)	31	38	23	20
Arena fina	(0.5 - 0.05 mm)	28	21	24	25
Densidad aparente	g/cc	1.01	0.72	0.75	1.28
0.3 bar (CC)	%	46.1	69.7	64.7	31.4
15.0 bar (PMP)	%	27.2	38.5	37.5	15.9
Humedad aprovechable	(peso)	18.9	31.2	27.2	15.5
Propiedades Químicas	Unidades				
pH	pH	6.7	6.8	6.7	6.4
Conductividad eléctrica	Ds/m	1.8	2.5	1	2
Materia orgánica	%	42.5	47.5	44.2	7.7
Nitrógeno	mg/kg	266	354	152	49
Fósforo	mg/kg	50	89	54	11
CIC	Meq/100g	48.3	52.7	62.3	24.1
Cu	mg/kg	140	158	71	185
Zn	mg/kg	16.8	20.5	31.0	5.0

Figura 2. Esporas de HMA; **a1** y **a2**: *Glomus* sp; Forma globosa, color café diámetro 82x82 μ m, grosor de pared 4 μ m. **b1** y **b2**: *Acaulospora* sp: Forma globosa con estructura anexa color café, diámetro 70x75 μ m y pared de 4 μ m.

Figure 2. AMF spores; **a1** and **a2**: *Glomus* sp; Globose shape, brown color, diameter 82x82 μ m, wall thickness 4 μ m. **b1** and **b2**: *Acaulospora* sp: Globose shape with brown attached structure, diameter 70x75 μ m y pared de 4 μ m.

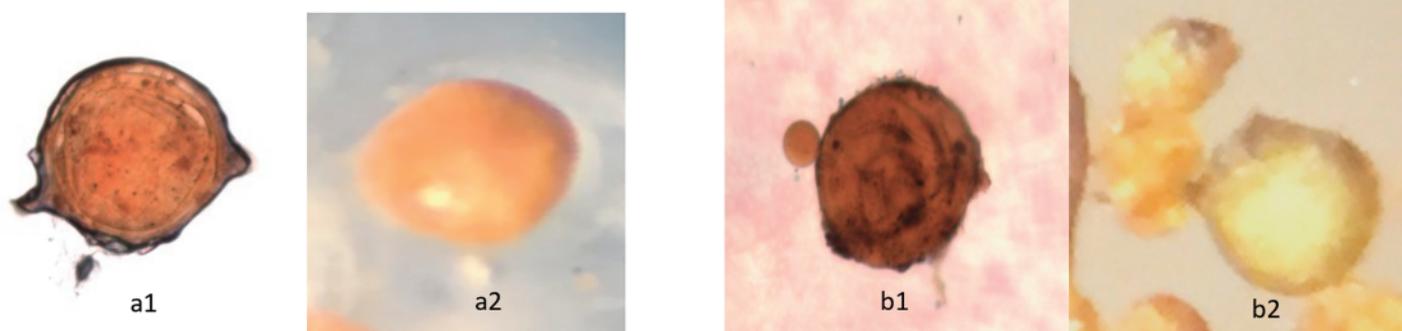


Tabla 2. Cantidad promedio de esporas de HMA en suelo rizosférico de *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y de la rizósfera del sitio El Gallo, en agosto de 2019 obtenidas en tres tamices, respectivamente.

Table 2. Average amount of AMF spores in rhizosphere soil from *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* and rhizosphere of El Gallo site, in August 2019 obtained in three sieves, respectively.

Suelo rizosférico / muestras	Contenido de esporas HMA/ 50 g de suelo rizosférico		
	Tamiz 63 μ m ¹	Tamiz 149 μ m ²	Tamiz 297 μ m ^{3*}
<i>Peumus boldus</i>	48.3 a	30.8 b	27.7 b
<i>Beilschmiedia miersii</i>	47.8 a	27.6 b	23.6 b
<i>Citronella mucronata</i>	39.5 a	27.8 b	29.0 b
El Gallo	33.4 a	5.6 a	0.6 a

NOTA: En cada columna, letras diferentes indican diferencias significativas entre los tratamientos por cada columna.

¹ Nivel de significancia ≤ 0.05 .

² ANOVA de Welch, Games-Howell, nivel de significancia ≤ 0.05 .

³ ANOVA, Tukey, nivel de significancia ≤ 0.05 .

*Este análisis presenta una pequeña desviación de la normalidad en el grupo El Gallo. El ANOVA de un factor se considera una prueba robusta frente a la falta de normalidad, siempre que esta sea baja.

Tabla 3. Medias del número de esporas de HMA y desviación estándar, en suelo rizosférico de *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y de la rizósfera del sitio El Gallo, en enero de 2020 obtenidas en tres tamices, respectivamente.

Table 3. Means of AMF spore number and standard deviation, in rhizosphere soil of *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* and rhizosphere of El Gallo site, in January 2020 obtained in three sieves, respectively.

Suelo rizosférico / muestras	Contenido de esporas HMA/ 50 g de suelo rizosférico		
	Tamiz 63 µm	Tamiz 149 µm	Tamiz 297 µm
<i>Peumus boldus</i>	23.1 ± 10.4	11.9 ± 4.7	0.6 ± 0.7
<i>Beilschmiedia miersii</i>	27.5 ± 9.6	11.0 ± 2.4	9.3 ± 1.5
<i>Citronella mucronata</i>	63.0 ± 23.1	10.8 ± 4.3	9.3 ± 1.6
El Gallo	40.0 ± 10,0	4.8 ± 1.1	0.6 ± 0.9

NOTA. En las mediciones obtenidas de las muestras de enero de 2020 no fue posible realizar ANOVA debido a la falta de normalidad. Tampoco fue posible realizar el test de Kruskal-Wallis debido a que los grupos presentaron diferente forma de distribución.

Este comportamiento se observa en la colecta de suelo rizosférico para ambas fechas. Es posible observar diferencias estadísticas del tratamiento El Gallo respecto a los demás tratamientos para los tamizados independientes a 149 y 297 µm en el mes de agosto 2019. En el tamizado a 63 µm no se produjo diferencias significativas, mientras que los resultados de la **Tabla 3** obtenidos en el mes de enero 2020, no cumplieron las premisas para aplicar métodos estadísticos, por lo tanto, se presentan las medias de esporas por tratamiento con sus desviaciones estándares respectivas, realizándose un análisis descriptivo en este caso.

A partir de la **Tabla 4**, es posible observar que los géneros *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. son los géneros dominantes, y las que presentan tamaños de acuerdo con la taxonomía (INVAM 2019) entre los rangos que incluyen los tamices de 297 y 63 µm.

Discusión

La alteración de las comunidades vegetales por acción antrópica o natural afectan las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo tales como: estructura, la disponibilidad de nutrientes, contenido de materia orgánica, la diversidad y actividad microbiana, limitando el potencial para el restablecimiento de especies nativas, acelerando la erosión y desertificación, produciendo cambios en la densidad y composición de la comunidad de los HMA. En estos sitios alterados lo que sobrevive son las esporas, pero se afecta negativamente el micelio de los HMA, impidiendo la colonización de raíces de las plantas (Abbott y Robson 1991; Hart y Reader 2004).

En los tratamientos utilizados, el contenido de materia orgánica para todas las muestras de las especies esclerófilas es muy alto, sin embargo, para del sitio El Gallo el contenido es inferior, lo que se relaciona con la acción antrópica humedad del suelo, presencia

de metales pesados, entre otras. En tanto, la densidad aparente fue superior a las muestras provenientes de las especies esclerófilas respecto del sitio El Gallo con alteración. Las texturas en los tratamientos (3 especies arbóreas), son franca a franca arenosa, lo que difiere de la textura franco-arcillosa, en donde se produce una reducción de la aireación, que a su vez afecta negativamente a los HMA, en particular cuando se produce un aumento del contenido de agua.

En relación con el nivel de acidez y disponibilidad de nutrientes, Vilcatoma-Medina et al. (2018) señalan que el pH del suelo presentaría una función importante al alterar la diversidad de los HMA. Los tratamientos presentaron un pH ligeramente ácido y niveles de nitrógeno adecuado a alto, niveles de fósforo medio y altos niveles de cobre. Se observó que el contenido de macronutrientes esenciales como N, P y K, presentan niveles altos en los suelos de especies esclerófilas, a diferencia del suelo en rehabilitación del sitio El Gallo. Los altos niveles de P y N podrían afectar la colonización de las raicillas y se estaría afectando la formación de esporas, esto explicaría las densidades obtenidas por cada 50 gramos de suelo rizosférico/ tratamiento, obtenida bajo el dosel. Una vez que la simbiosis se activa, el rango de absorción de los HMA se amplía y mejora al activarse la secreción de ácidos orgánicos y fosfatasa ácida, para dejar disponible el fósforo para la planta. Si el fósforo disponible se encuentra fuera del rango normal para la especie vegetal, se afecta la formación y colonización de los HMA, debilitando la interacción simbiótica entre planta y los HMA (Zhang et al. 2010; Zhang et al. 2017), afectando la densidad de esporas por el alto contenido de N y P en el suelo (Carvalho et al. 2003; Avio et al. 2013; Lin et al. 2020). En contraposición, Mohammad et al. (2003), señalan existiría un efecto neutro del pH, conductividad eléctrica, porcentaje de arcilla y limo sobre la densidad de esporas.

Tabla 4. Principales géneros identificados de esporas de micorrizas por tratamiento, obtenido bajo la canopia de *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y de la rizósfera del sitio El Gallo.

Table 4. Main mycorrhizal spore genus identified per treatment, obtained under the canopy of *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* and from the rhizosphere of the El Gallo area.

Escala de abundancia de esporas	Alto (25 unidades)	Medio (10 y 25 unidades)	Bajo (10 unidades)
<i>Peumus boldus</i>	<i>Glomus</i> sp	<i>Acaulospora</i> sp	otras
<i>Beilschmiedia miersii</i>	<i>Glomus</i> sp	<i>Acaulospora</i> sp	otras
<i>Citronella mucronata</i>	<i>Glomus</i> sp	<i>Acaulospora</i> sp	otras
El Gallo	<i>Glomus</i> sp	<i>Acaulospora</i> sp	otras

El alto contenido de N, P, K en los tratamientos, indicaría que se generan cambios en la diversidad morfológica y ecológica del microbiota en la rizosfera. La diversidad de los HMA puede ser menor y más homogénea en suelos fértiles que tienen una alta relación nitrógeno/ fósforo. Sin embargo, las raíces de las plantas y el desarrollo de los HMA se ajustan principalmente a la disponibilidad de P (Ushio et al. 2015; Vilcatoma-Medina et al. 2018).

Por otra parte, los altos niveles de cobre en los cuatro tratamientos pueden indicar que las micorrizas existentes presentan resistencia a este mineral (Cornejo et al. 2013), lo cual sería un factor por considerar al momento de seleccionar las cepas o aislados de los géneros de los HMA para reinocular semillas y plantas que se empleen en la zona de rehabilitación.

En relación con la cantidad de esporas, Shukla y Anuradha (2013) señalan que la cantidad de esporas es menor a mayor profundidad de suelo. En los cuatro tratamientos se detectó presencia de esporas a los 20 cm de profundidad en ambas fechas de colecta, siendo menor en el mes de enero, lo cual sería opuesto a lo esperado, debido a que las condiciones adversas podrían haber estimulado la formación de esporas de sobrevivencia. La colecta de esporas fue mayor con los tamices 63 y 149 μm y menor proporción con tamiz de 297 μm .

En la localidad de Nogales, a finales de invierno (agosto), comienzan a aumentar las temperaturas de suelo y el contenido de humedad. Esta condición promovería el crecimiento de raíces y la colonización de los HMA. Actualmente, la condición de sequía de los últimos 10 años en la región de Valparaíso ha reducido la humedad presente en los suelos. Para el mes de enero (verano), la humedad disminuye, así como otras condiciones micro ambientales que varían por el aumento de la temperatura, por lo que las raicillas debiesen encontrarse en renovación y crecimiento. De manera simultánea en la colonización de HMA, se espera un aumento en la formación de esporas como medida de sobrevivencia frente al estrés abiótico. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio no permiten observar lo señalado, por el contrario, en verano disminuyeron las esporas promedio/ tratamiento, lo que indica que a inicios de verano no se estarían formando raíces laterales, con tasas de colonización y formación de esporas de los HMA limitadas.

El contenido de humedad del suelo puede ser el principal factor ambiental que afectaría la tasa de crecimiento de raíces, las tasas de colonización de los HMA (Lin et al. 2020) y posiblemente de esporulación. El estrés en las plantas esclerófilas que presentan adaptaciones propias al clima mediterráneo y la baja disponibilidad de agua estaría siendo presionada, afectándose los procesos biológicos del suelo y afectarían a la presencia, diversidad y abundancia de la microbiota general y en particular de las micorrizas, que estarían ejerciendo a su vez un rol importante para la sobrevivencia y adaptabilidad de las especies esclerófilas a los suelos del área en estudio. En cuanto a la humedad aprovechable, en los tratamientos *Peumus boldus* y sitio El Gallo fue menor y para *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata* fue superior; sin embargo, no presentó correlación con la densidad de esporas de HMA.

En los cuatro tratamientos se identificó en mayor proporción al género *Glomus* sp. y en menor proporción *Acaulospora* sp. En relación con la identificación de los géneros predominantes de las esporas, la mayor densidad (≥ 25 esporas) correspondió al género *Glomus* sp., en tanto en el nivel medio (entre 10 y 25 esporas) se identificó esporas del género *Acaulospora* sp. en todos los tratamientos. Ambos géneros pertenecen a las familias Glomeraceae y Acaulosporaceae, respectivamente, subphylum Glomeromycotina, coincidiendo con Castillo et al. (2016) quienes identificaron que las familias más abundantes de especies registradas de HMA en la zona centro-sur de Chile fueron Glomeraceae y Acaulosporaceae. Ambos géneros resultan predominantes en ambas colectas, indicando su grado de adaptabilidad a condiciones adversas ejerciendo su rol como estructuras de sobrevivencia (esporas), considerándose parte de la microbiota de rizosfera, sin embargo; al germinar las hifas estas podrían ser inhibidas por exudados de las plantas o parasitadas por microorganismos (Brundrett y Tedersoo 2018).

En el suelo alterado del sitio El Gallo también se detectó HMA, presentando una densidad y morfotipos de esporas inferiores numéricamente a las encontradas en las muestras de suelo de las especies *Peumus boldus* y *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata* para los tamices de 149 y 297 μm . Por lo tanto, al relacionar los resultados fisicoquímicos del suelo con el menor contenido de esporas, sería una respuesta a la escasa vegetación, humedad aprovechable y a los niveles de N y P de este tratamiento.

Autores como Carvalho et al. (2003) y Soka y Richie (2015), mencionan que la biodiversidad de especies de plantas es importante, porque se relaciona con la diversidad de las HMA que permitirían la formación de una red de comunicación hifal favoreciendo el funcionamiento del ecosistema, al reducir las pérdidas del recurso suelo, disminuyendo la erosión, mejorando la estructura y favoreciendo la retención e infiltración del agua. La eliminación de la capa orgánica del suelo en las áreas degradadas produce una significativa disminución de la diversidad de esporas (Cuenca et al. 1998). Las esporas e hifas de HMA, contienen varios núcleos que mediante anastomosis puede variar el material genético a nivel individual y como comunidad, según las condiciones abióticas y bióticas del lugar. Lo anterior se explicaría por la plasticidad obtenida genéticamente, para la simbiosis entre los HMA con diferentes especies vegetales. Por lo tanto, no se podría predecir la efectividad de la combinación de géneros de los HMA y las especies vegetales que podrían introducirse en un área degradada (Ehinger et al. 2009).

La composición de la comunidad de los HMA depende de las especies de plantas hospederas que pueden presentar grados de selectividad entre las especies de los HMA, agrupándose en plantas selectivas o especialistas hasta no selectivas o generalistas (Oehl et al. 2003), aun cuando Smith et al. (2000) señalan que los miembros de las familias Glomeraceae y Acaulosporaceae tienen hifas delicadas y difusas que se relacionarían con una vida corta. Entre los HMA que se encuentran en diferentes ecosistemas está el género *Glomus* sp. que es altamente infectivo. Miranda (2003) indica que *Glomus* sp. coloniza raíces de plantas en suelos con diferentes características fisicoquímicas y condiciones ambientales. Por otra parte, Oehl et al. (2004), señala que, en un patrón de sucesión de la formación de esporas de los HMA, *Glomus* sp. es el primero en producir esporas cuando las raíces comienzan a senescer, mientras que *Acaulospora* sp. es un género que lo hace después del periodo invernal a inicios de primavera, esto se cumpliría en suelos del presente estudio al identificarse los mismos géneros.

Los resultados del presente estudio aportan a la generación de un plan de rehabilitación que considere especies nativas tolerantes al estrés de ambientes degradados, capaces de crecer en suelo erosionado, participando en la restauración natural del ecosistema (Vyas y Gupta 2014; Camprubi et al. 2015; Neuenkamp et al. 2018) porque la reforestación produce un aumento en el número de miembros de las Glomeraceae, pero no se restablece la diversidad de esporas al nivel de los suelos no degradados (Smith et al. 2015; Cuenca et al. 1998), requiriéndose un manejo que pueda incorporar la inoculación de esporas de HMA seleccionadas, a semillas y plantas que permitan el establecimiento y desarrollo de especies vegetales micorrizadas, favoreciendo su adaptación en el área en rehabilitación.

Conclusiones

Se identificó los géneros predominantes de HMA *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. y se determinó la densidad de esporas de suelo rizosférico de las especies *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii*, *Citronella mucronata* y del sitio El Gallo, provenientes de una quebrada afecta a la actividad minera, en fase de rehabilitación.

Ambos géneros fueron obtenidos a 20 cm de profundidad, presentando una adaptación a altos contenidos de N, P, Cu y materia orgánica de los suelos.

Las concentraciones de esporas identificadas permiten establecer un valor de referencia sobre la densidad de esporas presentes en la zona con acción antrópica y sobre el bosque nativo esclerófilo en donde está presente, para la gestión de mejoras en la cantidad y diversidad de HMA en un manejo de sucesión de especies vegetales en el tiempo, para aproximarse a la condición inicial de la quebrada, previo al manejo antrópico, cercanos a los valores obtenidos en las muestras de *Peumus boldus*, *Beilschmiedia miersii* y *Citronella mucronata*.

Es importante la incorporación de esporas de HMA y de vegetación nativa que permitan la generación de una red de comunicación in situ en los ecosistemas en rehabilitación, mejorando las condiciones de propagación y desarrollo del bosque. Los resultados indican que *Glomus* sp. y *Acaulospora* sp. presentan una mayor amplitud de adaptación a las condiciones ambientales en el bosque esclerófilo, en el ecosistema particular de la cordillera de la costa en la región de Valparaíso, siendo propicios para ser incorporados en un programa de manejo.

Contribución de los autores

Rosa Arancibia: conceptualización, investigación, redacción, Manuel Flores: Administrador del proyecto, adquisición de fondos, redacción, Tatiana Cabrera: investigación, Juan Sánchez: revisión y edición, Javier Obando: revisión y edición.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la empresa Minera Anglo American Sur Ltda. por el apoyo financiero y técnico brindado al desarrollo del proyecto N° 4600020635

Referencias

- Abbott, L.K., Robson, A.D. 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agriculture, ecosystems and environment* 35(2-3), 121-150.
- Amigo, J., Flores-Toro, L. 2012. Revisión taxonómica de los bosques esclerófilos de Chile central: la alianza *Cryptocaryon albae*. *Lazaroa* 33: 171-196.
- Avio, L., Castaldini, M., Fabiani, A., Bedini, S., Sbrana, C., Turrini, A., Giovannetti, M. 2013. Impacto de la fertilización con nitrógeno y la labranza del suelo en las comunidades de hongos micorrízicos arbusculares en un agroecosistema mediterráneo. *Biología y bioquímica del suelo* 67, 285-294.
- Balzarini, M., Di Rienzo, J., Tablada, M., González, L., Bruno, C., Córdoba, M., Casanoves, F. 2011. *Estadística y Biometría*. Editorial Brujas, 1° Edición. Primera Impresión. Córdoba, Argentina.
- Beaudet, D., Nadimi, M., Iffis, B., Hijri, M. 2013. Rapid Mitochondrial Genome Evolution through Invasion of Mobile Elements in Two Closely Related Species of Arbuscular Mycorrhizal Fungi. *PLoS ONE* 8(4): e60768. <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0060768>
- Benedetti, S., Balocchi, F., Hormazábal, M. 2018. Hongos micorrízicos arbusculares (HMA) asociados a poblaciones naturales de *Peumus boldus* en Chile Central. *Gayana Botánica* 75, 431-437.
- Blake, G.R., Hartge, K.H. 1986. Particle Density, En: Klute, A. (ed.), *Methods of Soil Analysis: Part 1 Physical and Mineralogical Methods*, 5.1, (Second Edition), pp. 377-382. American Society of Agronomy, Inc. and Soil Science Society of America, Inc., Estados Unidos.
- Brundrett, M.C., Tedersoo, L. 2018. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytologist* 220(4), 1108-1115.
- Brundrett, M.C., Ashwath, N., Jasper, D.A. 1996. Micorrizas en la región de Kakadu en la Australia tropical. *Planta y Suelo* 184 (1), 159-171.
- Bueno, C.G., Marín, C., Silva-Flores, P., Aguilera, P., Godoy, R. 2017. Think globally, research locally: emerging opportunities for mycorrhizal research in South America. *New Phytologist* 215, 1306-1309.
- Camprubi, A., Zárate, I.A., Adholeyá, A., Lovato, P.E., Calvet, C. 2015. Rendimiento de campo y producción de aceite esencial de romero micorrízico en la restauración de suelos bajos en nutrientes. *Degradación y desarrollo de la tierra* 26 (8), 793-799.
- Carvalho, L.M., Correia, P.M., Ryel, R.J., Martins-Loucao, M.A. 2003. Spatial variability of arbuscular mycorrhizal fungal spores in two natural plant communities. *Plant and Soil* 251, 227-236.
- Castillo, C.F., Borie, F., Oehl, E., Sieverding, E. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity: prospecting in Southern-Central zone of Chile. A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* vol.16 no.2.
- Centro de Información de Recursos Naturales (CIREN) 2019. Sistema de Información Territorial, Comuna de Nogales. Recursos Naturales, agosto 2019. 32 p. Disponible en: https://www.sitrrural.cl/wp-content/uploads/2020/03/Nogales_rec_nat.pdf
- Cornejo, P., Pérez-Tienda, J., Meier, S., Valderas, A., Borie, F., Azcón-Aguilar, 2013. Copper compartmentalization in spores as a survival strategy of arbuscular mycorrhizal fungi in cu-polluted environments. *Soil Biology and Biochemistry* 57: 925-928.
- Cuenca, G., De Andrade, Z., Escalante, G. 1998. Diversidad de esporas de Glomalean de comunidades naturales, perturbadas y revegetadas que crecen en suelos tropicales pobres en nutrientes. *Biología y bioquímica del suelo* 30(6), 711-719.
- Davison, J., Moora, M., Öpik, M., Adholeyá, A., Ainsaar, L., Bâ, A., Zobel, M. 2015. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science* 349 (6251), 970-973.
- Delavaux, C.S., Smith-Ramesh, L.M., Kuebbing, S.E. 2017. Más allá de los nutrientes: un metaanálisis de los diversos efectos de los hongos micorrízicos arbusculares en plantas y suelos. *Ecology* 98(8), 2111-2119.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Gonzalez, L.A., Tablada, E.M., Díaz, M.P., Robledo, C.W., Balzarini, M.G. 2008. *Estadística para las Ciencias Agropecuarias, séptima edición digital*. 374p. Editorial Brujas, Córdoba, Argentina.
- Dirección Meteorológica de Chile 2021. Climatología. Recurso en línea [Consultado el 25 de noviembre 2021]. Disponible en <http://www.meteo-chile.gob.cl/PortalDMC-web/index.xhtml>
- Dobbs, C., Miranda, M. 2019. Nuestros bosques se secan. Proyecto GEF montaña. Disponible en: <https://gefmontana.cl/nuestrosbosques-se-secan/>
- Ehinger, M., Koch, A., Sanders, I. 2009. Changes in arbuscular mycorrhizal fungal phenotypes and genotypes in response to plant species identity and phosphorus concentration. *New Phytologist* 184: 412-423
- Hart, M., Reader, R. 2004. Do arbuscular mycorrhizal fungi recover from soil disturbance differently? *Tropical Ecology* 45(1): 97-111, 2004.
- INVAM 2019. *International culture collection of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi*. Recurso en línea. [Accedido el 8 de febrero de 2021] Disponible en: <https://invam.wvu.edu/home>
- Lin, C., Wang, Y., Liu, M., Li, Q., Xiao, W., Song, X. 2020. Effects of nitrogen deposition and phosphorus addition on arbuscular mycorrhizal fungi of Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*). *Scientific Reports* 10(1), 1-8.
- Mansilla, N. 2007. *Línea de base estrategia regional de biodiversidad sitio: "Cordillera el Melón"*. Comisión Nacional del Medio Ambiente región de Valparaíso. Unidad de Protección de Recursos Naturales, CONAMA Región de Valparaíso. Chile. 67p.
- Marín, C., Aguilera, P., Oehl, F., Godoy, R. 2017. Factors affecting arbuscular mycorrhizal fungi of Chilean temperate rainforests. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 17, 966-984.
- Miranda, J.C. 2003. Contribuição da micorriza arbuscular na reposta das culturas à calagem e adubação fosfatada em solos de cerrado. Comunicado técnico 89. Embrapa-CPAC, Planaltina, Brasil. Disponible en: https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAC-2009/25872/1/comtec_89.pdf
- Mohammad, M.J., Hamad, S.R., Malkawi, H.I. 2003. Population of arbuscular mycorrhizal fungi in semi-arid environment of Jordan as influenced by biotic and abiotic factors. *Journal of Arid Environments* 53, 409-417.
- Neuenkamp, L., Moora, M., Öpik, M., Davison, J., Gerz, M., Männistö, M., Zobel, M. 2018. El papel del tipo y estado de las micorrizas de las plantas en la modulación de la relación entre las comunidades de hongos micorrízicos vegetales y arbusculares. *New Phytologist* 220 (4), 1236-1247.
- Oehl, F., Sieverding, E., Ineichen, K., Mäder, P., Boller, T., Wiemken, A. 2003. Impact of land use intensity on the species diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology* 69, 2816-2824.
- Oehl, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T., Wiemken, A. 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia* 138(4), 574-583.

- Peterson, R.L., Massicotte, H.B. 2004. Exploring structural definitions of mycorrhizas, with emphasis on nutrient-exchange interfaces. *Canadian Journal of Botany* 82(8), 1074-1088.
- Pozo, M.J., López-Ráez, J.A., Azcón-Aguilar, C., García-Garrido, J.M. 2015. Phytohormones as integrators of environmental signals in the regulation of mycorrhizal symbioses. *New Phytologist* 205 (4), 1431-1436.
- Saparrat, M.C.N., Ruscitti, M.F., Arango, M.C. 2020. *Micorrizas arbusculares*. Libros de Cátedra. Universidad Nacional de la Plata. La Plata, Argentina.
- Schenck, N.C., Pérez, Y. 1990. *Manual for the identification of VA mycorrhizal fungi*. Synergistic Publications, Gainesville, FL, Estados Unidos. 139p.
- Schübler, A., Walker, C. 2010. *The Glomeromycota: A Species List with New Families and New Genera*. The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, y Oregon State University, Reino Unido y Estados Unidos.
- Servicio Nacional de Geología y Minería (SERNAGEOMIN) 2021. *Anuario de la Minería de Chile 2020*. Servicio Nacional de Geología y Minería. Santiago, Chile. 271 p.
- Shukla, D.V., Anuradha, J. 2013. Soil depth: An overriding factor for distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13(1), 23-33
- Sieverding, E. 1983. *Manual de métodos para la investigación de la micorriza vesículoarbuscular en el laboratorio*. Proyecto micorrizas. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT), Palmira, Colombia. 356p.
- Smith, F., Jakobsen, I., Smith, S. 2000. Spatial differences in acquisition of soil phosphate between two arbuscular mycorrhizal fungi in symbiosis with *Medicago truncatula*. *New Phytologist* 147: 357-366.
- Smith-Ramírez, C., González, M.E., Echeverría, C., Lara, A. 2015. Estado actual de la restauración ecológica en Chile, perspectivas y desafíos. *Anales del Instituto de la Patagonia* 43(1), 11-21. <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-686X2015000100002>
- Soka, G., Ritchie, M. 2015. Arbuscular mycorrhizal symbiosis, ecosystem processes and environmental changes in tropical soils. *Applied Ecology and Environmental Research* 13, 229-245.
- Ushio, M., Fujiki, Y., Hidaka, A., Kitayama, K. 2015. Linkage of root physiology and morphology as an adaptation to soil phosphorus impoverishment in tropical montane forests. *Functional Ecology* 29:1235-1245.
- Vilcatoma-Medina, C., Kaschuk, G., Zanette, F. 2018. Colonization and spore richness of arbuscular mycorrhizal fungi in Araucaria nursery seedlings in Curitiba, Brazil. *International Journal of Agronomy* 2018: 5294295.
- Van der Heijden, M.G.A., Martin, F.M., Selosse, M.A., Sanders, I.R. 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytologist* 205, 1406-1423.
- Vyas, D., Gupta, R.K. 2014. Effect of edaphic factors on the diversity of VAM fungi. *Tropical Plant Research* 1, 14-25
- Zhang, Q., Yang, R., Tang, J., Yang, H., Hu, S., Chen, X. 2010. Positive feedback between mycorrhizal fungi and plants influences plant invasion success and resistance to invasion. *PLoS one* 5(8), e12380.
- Zhang, S.B., Wang, Y.S., Yin, X.F., Liu, J.B., Wu, F.X. 2017. Desarrollo de hongos micorrízicos arbusculares (AM) y sus influencias en la absorción de N y P del maíz a diferentes niveles de aplicación de fósforo en el suelo. *Journal of Plant Nutrition* 23, 649-657.