

# ALTA PRESENCIA DE CADMIO RESULTA EN BAJA DIVERSIDAD DE HONGOS FORMADORES DE MICORRIZAS ARBUSCULARES ASOCIADOS A CACAO (*Theobroma cacao* L.)

## High cadmium concentration resulted in low arbuscular mycorrhizal fungi community diversity associated to cocoa (*Theobroma cacao* L.)

Jhon Felipe Sandoval-Pineda<sup>1</sup>, Urley Adrián Pérez-Moncada<sup>2</sup>, Alia Rodríguez<sup>3</sup>, Esperanza Torres-Rojas<sup>1</sup>\*

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 # 26-85, Bogotá, Colombia

<sup>2</sup>Laboratorio de Microbiología Agrícola, Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria - AGROSAVIA, Centro de Investigación Tibaitatá. Km 14 Vía Mosquera - Cundinamarca, Colombia

<sup>3</sup>Departamento de Biología, Universidad Nacional de Colombia, Carrera 45 # 26-85, Bogotá, Colombia

\*For correspondence: etorresr@unal.edu.co

Received: 28<sup>th</sup> March 2019, Returned for revision: 09<sup>th</sup> August 2019, Accepted: 28<sup>th</sup> November 2019.

Associate Editor: Caroline Turchetto.

Citation/Citar este artículo como: Sandoval-Pineda JF, Pérez-Moncada UA, Rodríguez A, Torres Rojas E. Alta presencia de cadmio resulta en baja diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares asociados a cacao (*Theobroma cacao* L.). Acta Biol Colomb. 2020;25(3):333-344. Doi: <http://dx.doi.org/10.15446/abc.v25n3.78746>

### RESUMEN

Los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) son simbioses obligados presentes en la rizósfera de plantas de cacao y la diversidad de sus comunidades se modifica, dependiendo de diversos factores como la presencia de cadmio (Cd) en el suelo. La persistencia de HFMA en suelos enriquecidos naturalmente con Cd podría ser un indicador de su capacidad para tolerar esta condición. Esta investigación caracterizó la estructura de la comunidad de HFMA locales presentes en la rizósfera de plantas de cacao en dos suelos con baja (B-Cd: 0,1 mg kg<sup>-1</sup>) y alta (A-Cd: 20,9 mg kg<sup>-1</sup>) concentración de Cd. Esporas de HFMA se identificaron mediante claves taxonómicas y su abundancia, riqueza y diversidad se determinó en muestras de suelo originales y después de su multiplicación mediante cultivos trampa. Las comunidades de HFMA se compararon usando análisis de componentes principales (ACP) e índices de diversidad alfa y beta. Los resultados indican que A-Cd presentó valores significativamente menores de abundancia (21 %), riqueza (20 %) y diversidad (11 %) de morfoespecies de HFMA con respecto a B-Cd. Las dos comunidades de HFMA presentaron cinco de siete géneros en común, pero solo cuatro de las 23 morfoespecies descritas se encontraron en ambas comunidades. El análisis de diversidad beta y el ACP determinaron baja similaridad y tasa de recambio entre las comunidades de HFMA. La dominancia de *Diversispora spurca*, *Rhizoglossum* sp. y *Claroideoglossum etunicatum* en A-Cd sugiere que estas morfoespecies son estrés-tolerantes y candidatos potenciales para el desarrollo de estrategias de mitigación en suelos con Cd.

**Palabras clave:** dominancia, comunidades fúngicas, estrategias de adaptación, metales pesados, tolerancia.

### ABSTRACT

Arbuscular mycorrhizae fungi (AMF) are obligate symbionts present in rhizosphere of cocoa plants and their community diversity is modified depending on several factors, such as cadmium (Cd) presence in soil. AMF persistence on Cd natural enriched soils might be an indicator of their tolerance and their potential in biotechnological applications. In this research we characterized local AMF community structure present in cocoa rhizosphere soils with low (B-Cd: 0.1 mg kg<sup>-1</sup>) and high (A-Cd: 20.9 mg kg<sup>-1</sup>) natural Cd concentrations. AMF spore identification was carried out using taxonomic keys and their abundance, richness and diversity were determined in original samples and after multiplication process using onion trap cultures. AMF communities were compared using alpha and beta diversity indexes and principal component analysis (PCA). The results indicated that A-Cd presented significant lower values of abundance (21 %), richness (20 %) and diversity (11 %) of AMF morphospecies in comparison with B-Cd. Both AMF communities presented five of seven genera in common, but only four of 23 morphospecies described were found in two communities. Low similarity and turnover were found among AMF communities throughout beta diversity analysis and PCA. Dominance of *Diversispora spurca*, *Rhizoglossum* sp. and *Claroideoglossum etunicatum* in A-Cd suggests that these morphospecies are stress-tolerant and they are potential candidates for the development of mitigation strategies in cocoa plants under Cd stress.

**Keywords:** adaptation strategy, dominance, fungal communities, heavy metals, tolerance.

## INTRODUCCIÓN

Los metales pesados (MPs) pueden estar presentes en diversos suelos alrededor del mundo (Mahar *et al.*, 2016) y son considerados como uno de los mayores estreses abióticos que pueden afectar y modificar las poblaciones microbianas del suelo, incluidos los hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) (Krishnamoorthy *et al.*, 2015). Dentro de los MPs se encuentra el cadmio (Cd) que está presente naturalmente en el suelo como resultado de la meteorización de su material parental (Gramlich *et al.*, 2018) o producto de actividades antropogénicas como la aplicación de fertilizantes, riego con aguas contaminadas o vertimiento de residuos industriales (Lora y Bonilla, 2010; Schneider *et al.*, 2016).

El cacao es una planta que tiene alta capacidad para extraer, transportar y acumular Cd en sus frutos (Gramlich *et al.*, 2018), por lo cual la probabilidad de encontrar trazas de este metal en el grano aumenta con el establecimiento de cultivos en suelos con disponibilidad de Cd. La presencia de Cd en suelos cacaoteros se ha reportado en diferentes países productores de América como: Venezuela (Lanza *et al.*, 2016), Perú (Arévalo-gardini *et al.*, 2017), Ecuador (Chavez *et al.*, 2015), Colombia (Bravo *et al.*, 2018), Bolivia (Gramlich *et al.*, 2017) y Honduras (Gramlich *et al.*, 2018). Por esta razón, la búsqueda de alternativas que mitiguen la toma de Cd por parte de la planta son necesarias para evitar efectos negativos no solo en el mercado de los productos derivados del cultivo (Jiménez, 2015) sino también en la seguridad alimentaria descartando problemas nocivos en la dieta del consumidor que afecten su salud (FAO y OMS, 2014; Meter *et al.*, 2019).

Los HFMA son biótrofos obligados que se asocian aproximadamente al 71 % de las plantas terrestres (Brundrett y Tedersoo, 2018) y su asociación es ampliamente conocida por ser una de las estrategias más antiguas y extendidas para aumentar la tolerancia a estreses bióticos y abióticos de las plantas (Hildebrandt *et al.*, 2007). No obstante, la contribución de los HFMA a su planta hospedero depende de la diversidad, abundancia y eficiencia de sus comunidades (Schneider *et al.*, 2016), las cuales varían en función de diversos factores como altitud (Oehl *et al.*, 2017), régimen de humedad, fertilidad del suelo (Hazard *et al.*, 2007), contenido y tipo de MPs (Xu *et al.*, 2017), composición de la microbiota del suelo (Svenningsen *et al.*, 2018) y manejo agronómico (Pontes *et al.*, 2017), entre otros factores.

La determinación de la composición de las comunidades HFMA locales, presentes en suelos enriquecidos con metales como el Cd, es la base para desarrollar estrategias de mitigación que amortigüen el impacto de estos suelos en un agroecosistema (Schneider *et al.*, 2016), ya que estas comunidades pueden haber desarrollado tolerancia al metal y jugar un papel importante en la fitoremediación en sitios contaminados (Khan *et al.*, 2000). De esta manera reducen

la acumulación de Cd y la fitotoxicidad en sus plantas hospedero (Hildebrandt *et al.*, 2007; Millar y Bennett, 2016). Esta respuesta benéfica para las plantas hospedero no está asociada exclusivamente a una única especie de HFMA sino a la función que cumple la comunidad (Rodríguez y Sanders, 2015), ya que se han detectado diferencias en la retención y secuestro de MPs entre especies de HFMA (Pagano *et al.*, 2010). No obstante, las respuestas desfavorables, como incrementos en la toma de MPs por las plantas, sugieren la necesidad de contar con un mejor entendimiento de esta simbiosis, ya que otros factores como la genética de la planta hospedero y el tipo y concentración de MPs en el suelo, pueden afectar este proceso (Audet y Charest, 2007).

La dinámica de las comunidades de HFMA en presencia de un estrés ambiental ha sido descrita mediante el uso de los modelos de exclusión y adaptación propuestos por Millar y Bennett (2016), los cuales proponen modificaciones en la estructura de la comunidad de HFMA dependiendo de la intensidad y duración del tipo de estrés. En general, los estudios de diversidad de HFMA realizados en suelos contaminados con MPs se enfocan en el análisis de áreas expuestas a algún tipo de contaminación antropogénica, como el vertimiento de residuos industriales (Krishnamoorthy *et al.*, 2015; Schneider *et al.*, 2016), de alcantarillado (Del Val *et al.*, 1999) y de minería (Vogel-Mikuš *et al.*, 2005). Estos estudios únicamente corroboran la hipótesis de exclusión de Millar y Bennett, en la que la diversidad de HFMA se reduce y se modifica a corto plazo tras la aplicación del estrés en el suelo. En la actualidad no se han reportado estudios de diversidad de HFMA en suelos enriquecidos naturalmente con MPs, en los que la intensidad del estrés ha sido constante y continúa y podrían encontrarse comunidades de HFMA locales que tengan un efecto benéfico para sus plantas hospedero (Millar y Bennett, 2016). La hipótesis de esta investigación se basa en que la presencia natural de altas concentraciones de Cd en suelos cacaoteros afectaran la estructura de la comunidad de HFMA.

Este estudio busca caracterizar la diversidad de la comunidad de HFMA presente en suelos cacaoteros con niveles contrastantes y naturales de Cd para determinar el efecto que tiene este metal en la estructura de estas comunidades. Para ello, se realizó: (i) la determinación de las propiedades físicoquímicas de los suelos, (ii) la identificación y multiplicación de las morfoespecies presentes usando plantas trampa, (iii) la cuantificación de las abundancias relativas de morfoespecies y (iv) la comparación de las comunidades mediante la determinación de índices de diversidad alfa y beta así como por medio de un análisis de componentes principales (ACP). Los resultados de esta investigación permitieron identificar morfoespecies de HFMA que podrían tener potencial para el desarrollo de programas de mitigación en suelos contaminados con Cd.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Localización y muestreo de suelo

El muestreo se realizó en dos fincas cacaoteras caracterizadas previamente por su bajo y alto contenido de Cd de la región de Yacopí, Colombia (Rodríguez *et al.*, 2019) durante la temporada seca (febrero) de 2017. La distancia entre fincas es de 5 km y ambas pertenecen a la región natural de bosque húmedo tropical. Se seleccionaron cuatro árboles de cacao, sanos y en etapa reproductiva con aproximadamente siete años de producción, ubicados a una distancia de 10 m entre sí. Se tomaron cuatro muestras de suelo rizosférico a 15 cm de profundidad por cada árbol para obtener una muestra compuesta de 5 kg de suelo por árbol. En total, se obtuvieron cuatro muestras del suelo con baja concentración de Cd (B-Cd) y cuatro con alta concentración de Cd (A-Cd) para determinar el contenido de Cd disponible (Cd-d) y total (Cd-t), caracterizar las poblaciones de HFMA presentes y obtener el inóculo base para la multiplicación de sus esporas mediante cultivos trampa. Por otro lado, se utilizó una muestra compuesta por cada tipo de suelo para analizar sus propiedades físicoquímicas.

### Análisis físicoquímicos y taxonomía del suelo

Las propiedades físicoquímicas de suelo y las metodologías empleadas corresponden a la textura por el método de Bouyoucos mediante dispersión con Hexametáfosfato de Sodio; pH en suspensión suelo agua 1:1 (p/v); la capacidad de intercambio catiónico efectiva (CICE) por suma de cationes intercambiables; el carbono orgánico (CO) por el método de analizador elemental; fósforo (P) disponible por el método de Bray II; K, Ca, Mg y Na intercambiables extraídos con  $\text{CH}_3\text{COONH}_4$  1M pH 7,0; y acidez intercambiable (AI) extraída con KCl 1 M; Cd, Cu, Fe, Mn y Zn, disponibles extraídos con pentaacetato de dietilentriamina (DTPA) 1:2 (p/v). La determinación de Cd-t se realizó por extracción ácida con HCl:HNO<sub>3</sub> 1:8 (p/v). La cuantificación de metales se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica Perkin-Elmer Analyst 300 AAS (Perkin-Elmer, DK). Los análisis físicoquímicos se realizaron en el Laboratorio de Aguas y de Suelos de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Colombia sede Bogotá (UNAL). La taxonomía de los dos suelos se determinó mediante la descripción de perfiles utilizando la clave para la taxonomía de suelos (USDA, 2014) y el estudio general de suelos reportado para la zona de estudio (IGAC, 2000).

### Multiplicación de esporas de HFMA

Para la multiplicación de HFMA se utilizó la metodología de “cultivo trampa” de Morton *et al.* (1995) usando como

hospedero plantas de cebolla (*Allium fistulosum* var. Tokio Long White, Fercon®), crecidas en un sustrato con 800 g de una mezcla de suelo:arena 1:1 (p/p) autoclavada tres veces (110 °C, 45 min) y 200 g de la muestra de suelo rizosférico de cacao en materas de plástico de 1 L para el crecimiento de las plantas durante seis meses en los invernaderos del departamento de Biología de la UNAL. Este procedimiento se realizó para obtener esporas en buen estado para facilitar su identificación taxonómica y para identificar morfoespecies que en el momento del muestreo se encontraban en baja frecuencia o como fragmentos de hifas o vesículas presentes en la raíz (Antoniolli *et al.*, 2002).

### Extracción de esporas

Se realizaron extracciones de esporas de HFMA a partir de las cuatro muestras de suelo por cada una de las dos localidades seleccionadas por su contenido contrastante de Cd con tres repeticiones técnicas cada una. La extracción de esporas se realizó según Brundrett *et al.* (1984) en las muestras de suelo A-Cd y B-Cd traídas de campo (Original) y a los seis meses posteriores a la multiplicación en los “cultivos trampa” (Multiplicada).

### Identificación morfológica de esporas de HFMA

Las esporas se identificaron a nivel de morfoespecies y géneros en ambos suelos, diferenciando las morfoespecies por criterios morfológicos de tamaño, forma, color, número de paredes, tipo de conexión hifal y reacción histoquímica al reactivo de Melzer. Para la identificación de géneros de HFMA las esporas se montaron en portaobjetos con alcohol polivinílico-ácido láctico glicerol (PVLG) o PVLG mezclado con reactivo de Melzer en proporción 1:1 (v/v). Se siguieron las metodologías propuestas por Schenk y Perez (1990) y Oehl *et al.* (2011) y las descripciones del International Culture Collection of Vesicular Arbuscular Mycorrhizal Fungi (INVAM, <http://invam.caf.wvu.edu>).

### Determinación de estructura de la comunidad de HFMA

La estructura de la comunidad de HFMA se determinó mediante el cálculo de la riqueza y abundancia relativa de morfoespecies y géneros, además del uso de índices de diversidad alfa y beta. La riqueza se calculó como la cantidad de morfoespecies diferentes por género encontrados en cada muestra de suelo. La abundancia se calculó como la cantidad de esporas de HFMA encontrada por gramo de suelo seco. La abundancia relativa se determinó mediante conteos individuales de morfoespecies sobre el número de esporas totales en la muestra de suelo mediante la fórmula:  $f_i = n_i * 100 / N$ , donde  $n_i$  es la sumatoria del número de morfoespecies y N la sumatoria del número individuos encontrados. Para el análisis de la diversidad alfa se

determinaron los índices de Shannon-Weiner, dominancia de Simpson, uniformidad de Pielou y riqueza de Margalef; y para la diversidad beta se determinó el coeficiente de similaridad de Jaccard, el coeficiente de disimilaridad de Bray-Curtis y el índice de Whittaker para comparar las comunidades de HFMA originales provenientes de B-Cd y A-Cd. Los índices de diversidad alfa y beta se calcularon según Villarreal *et al.* (2004).

### Análisis estadístico

Los resultados del contenido de Cd-t, Cd-d, abundancia e índices de diversidad se analizaron mediante ANOVA y pruebas de comparación de medias de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ) siguiendo un diseño factorial simple en arreglo completamente al azar, posterior a la revisión de supuestos de normalidad (Shapiro-Wilk,  $p > 0,05$ ) y homogeneidad de varianzas (Fligner-Killeen,  $p > 0,05$ ). Adicionalmente, con la abundancia de cada morfoespecie de HFMA encontrada en muestras originales de ambos suelos se realizó un análisis de componentes principales (ACP) y un clúster jerárquico usando la distancia de Bray-Curtis para comparar la estructura de la comunidad entre sitios mediante las librerías *FactomineR* (Kassambara, 2017) y *pvcust* (Suzuki y Shimodaira, 2006). El método “average” se implementó en la creación de clústeres y se evaluó su robustez con una estrategia de bucle de remuestreo. Los datos obtenidos se procesaron con el programa estadístico R versión 3.4.0.

## RESULTADOS

### Composición físicoquímica y taxonomía del suelo

Los análisis físicoquímicos de suelo confirmaron que existen diferencias significativas en los contenidos de Cd-t y Cd-d entre las muestras de los suelos evaluados (Tabla 1). A-Cd presentó 18 y 209 veces más Cd-t y Cd-d, respectivamente, que lo encontrado en B-Cd. Con respecto a los demás elementos se encontró que A-Cd presentó contenidos de Ca (21,5 veces), Zn (35,3 veces), Cu (8,8

veces), Mn (7,9 veces) más que B-Cd. Adicionalmente, B-Cd presentó un pH extremadamente ácido (4,2) y a A-Cd uno moderadamente ácido (5,9) y únicamente en B-Cd se detectó acidez intercambiable de 5,38 meq / 100 g. Ambos suelos presentaron una textura franco-arcillosa y de acuerdo a la caracterización de los perfiles de suelos, B-Cd se clasificó como Typic dystrodepts (Inceptisol) y A-Cd como Typic udorthents (Entisol) (USDA, 2014).

### Estructura de la comunidad de HFMA

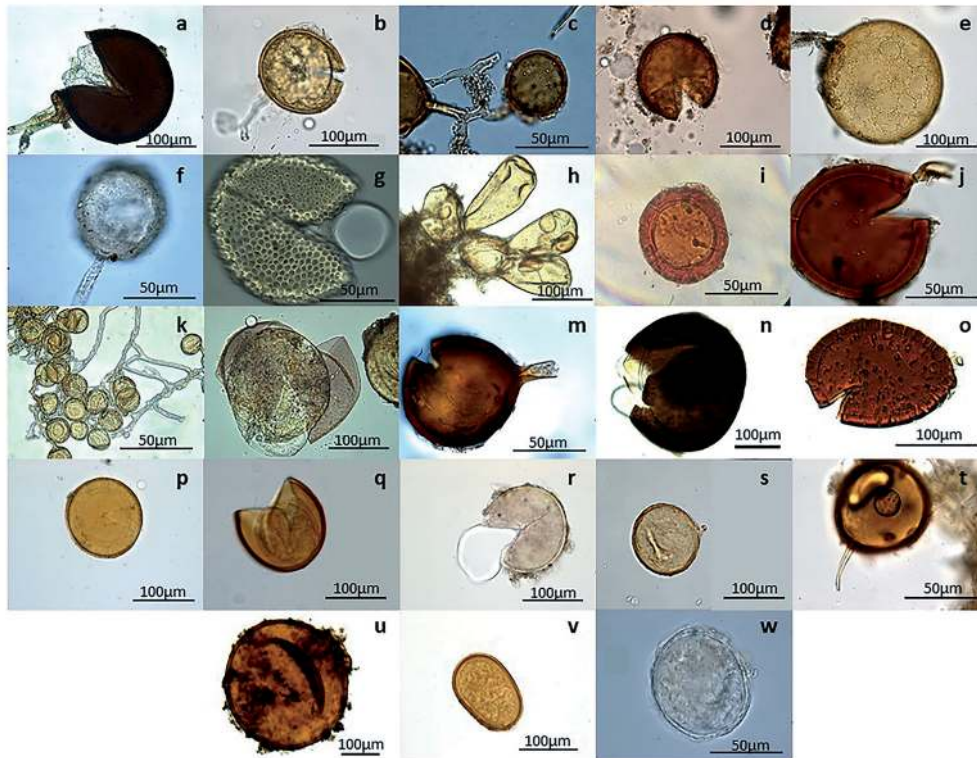
Con base en el análisis taxonómico de las esporas presentes en B-Cd y A-Cd, en muestras originales y multiplicadas en plantas trampa, se identificaron en total 23 morfoespecies diferentes (Fig. 1) pertenecientes a un total de siete géneros (Fig. 2a), de los cuales *Glomus* (Tul y Tul), *Claroideoglomus* (Walker y Schüssler, emend. Oehl, Silva y Sieverding (*Glomus* group B1)), *Rhizoglomus* (Sieverding, Silva y Oehl, gen. nov.), *Acaulospora* (Gerdemann y Trappe) y *Funneliformis* (Walker y Schüssler, emend. Oehl, Silva y Sieverding (*Glomus* group Aa1)) estuvieron presentes en ambos suelos. Los géneros *Ambispora* (Walker, Vestberg y Schuessler) y *Diversispora* (Walker y Schüssler, emend. Silva, Oehl y Sieverding (*Glomus* group Ca)) solamente se detectaron en B-Cd y A-Cd, respectivamente. Al comparar la riqueza de morfoespecies presente en las muestras originales, se encontró una mayor riqueza de morfoespecies en B-Cd (15), destacándose *Glomus* y *Acaulospora*, mientras que en A-Cd (12) se encontró un mayor número de morfoespecies de *Claroideoglomus* (Fig. 2a). Por otro lado, después del proceso de multiplicación de esporas en plantas trampa, se detectó que tanto en B-Cd como en A-Cd la riqueza disminuyó en una morfoespecie con respecto a la encontrada en sus muestras originales (Fig. 2a).

La abundancia de esporas de HFMA en las muestras originales fue significativamente menor en A-Cd (21 %) con respecto a B-Cd (Fig. 2b); posterior al proceso de multiplicación la abundancia se incrementó significativamente en B-Cd (62 %) y A-Cd (208 %) con respecto a su abundancia en las muestras originales. Finalmente, la diversidad medida

Tabla 1. Análisis físico-químico de las muestras de suelo con baja (B-Cd) y alta (A-Cd) concentración de Cd.

Suelo	CO NT		K	Ca	Mg	Na	Al	CICE	P	S	Cu	Fe	Mn	Zn	B	Cd-t	Cd-d	pH 1:1	Textura	Taxonomía	
	%	%																			meq / 100 g
B-Cd	7,29	0,63	0,29	1,1	0,3	0,04	5,38	7,11	21	22	0,48	310	1,9	1,83	0,44	1,5b	0,10b	4,2	FAR	Typic dytrodepts	
A-Cd	5,75	0,5	0,18	23,7	1,02	0,07	0	25	30	13,5	4,24	175	15	64,6	0,41	27,3a	20,9 <sup>a</sup>	5,9	FAR	Typic udorthents	
<i>p</i> -valor																				***	***

CO: Carbono orgánico; NT: Nitrógeno total; CICE: Capacidad de intercambio catiónico efectiva; Al: Acidez intercambiable; Cd-t: Cadmio total; Cd-d: Cadmio disponible; FAR: Franco-arcillosa. Asteriscos indican *p*-valor (\*\*\*, <0.001) del análisis de variancia correspondientes a las diferencias entre tipos de suelo. Valores con la misma letra en sentido vertical no son estadísticamente diferentes según pruebas de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ; n=4, CV: 20,6%).



**Figura 1.** Morfoespecies de HFMA encontradas en muestras de suelo con alta (A-Cd) y baja (B-Cd) concentración de Cd. *Glomus atrouva* (a), *Claroideoglomus* sp.1 (b), *Rhizoglomus* sp. (c), *Claroideoglomus etunicatum* (d), *Funneliformis mosseae* (e), *Diversispora spurca* (f), *Acaulospora* sp.1 (g), *Glomus sinuosum* (h), *Glomus microcarpum* (i), *Rhizoglomus fasciculatum* (j), *Rhizoglomus microaggregatum* (k), *Acaulospora* sp.2 (l), *Glomus aureum* (m), *Acaulospora foveata* (n), *Glomus* sp.1 (o), *Glomus* sp.3 (p), *Acaulospora colombiana* (q), *Claroideoglomus drummondii* (r), *Glomus* sp.2 (s), *Claroideoglomus* sp.2 (t), *Funneliformis verruculosus* (u), *Acaulospora mellea* (v), *Ambispora* sp. (w).

mediante el índice de Shannon fue significativamente menor en A-Cd con respecto a B-Cd (11 %) y no se encontraron diferencias significativas entre las muestras originales y multiplicadas (Fig. 2c).

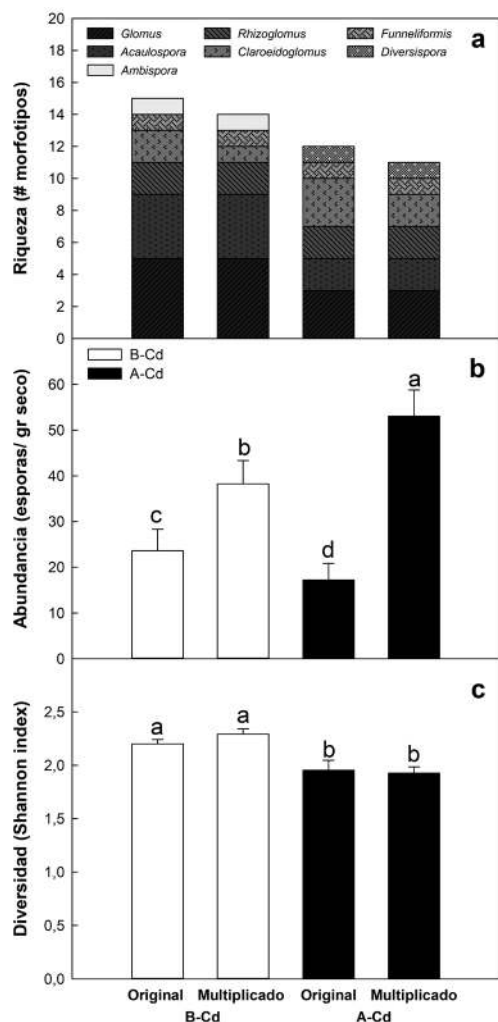
La abundancia relativa de morfoespecies de HFMA en muestras originales de ambos suelos presentó diferencias (Fig. 3a). En B-Cd predominaron *R. fasciculatum* ((Thaxt) Sieverding, Silva y Oehl comb. nov.) (17 %), *Claroideoglomus* sp.2 (15 %), *Acaulospora mellea* (Spain y Schenk) (13 %) y *Glomus* sp.1 (13 %), mientras que en A-Cd predominaron *Diversispora spurca* ((Pfeiff, Walker y Bloss) Walker y Schüssler) (22 %), *Rhizoglomus* sp. (20 %), *Claroideoglomus etunicatum* ((Becker y Gerdemann) Walker y Schüssler) (16 %), *Acaulospora* sp.1 (10 %) y *Rhizoglomus microaggregatum* ((Koske, Gemma y Olexia) Sieverding, Silva y Oehl comb. nov.) (9 %). Únicamente cuatro morfoespecies de las 23 descritas se presentaron en ambas muestras (Fig. 3a); estas fueron *Glomus microcarpum* (Tul y Tul) (Fig. 1i), *Rhizoglomus fasciculatum* (Fig. 1j), *Rhizoglomus microaggregatum* (Fig. 1k) y *Acaulospora* sp.1 (Fig. 1l).

Posterior al proceso de multiplicación con plantas trampa, se observó que las morfoespecies *Acaulospora* sp.1, *Ambispora* sp., *Claroideoglomus drummondii* ((Błaszowski y Renker) Walker y Schüssler), *Funneliformis verruculosus*

((Błaszowski) Walker y Schüssler) y *Glomus microcarpum* en B-Cd fueron, respectivamente, 4,1; 4,2; 3,2; 2,9 y 2,1 veces, más frecuentes que en sus muestras originales (Fig. 3). En A-Cd *Claroideoglomus etunicatum*, *Rhizoglomus fasciculatum* y *Funneliformis mosseae* ((Nicolson y Gerdenmann) Walker y Schüssler) fueron, correspondientemente, 2,5; 2,4 y 2,1 veces más frecuentes que en sus muestras originales. No se detectó *Rhizoglomus microaggregatum* (Fig. 1k) en ninguna de las muestras de suelo estudiadas (Fig. 3b).

### Índices de diversidad y ACP

Los índices de diversidad alfa mostraron diferencias significativas en la estructura de la comunidad de HFMA en las muestras de B-Cd y A-Cd (Tabla 2). El índice de Simpson presentó un mayor valor en A-Cd con respecto a B-Cd, mientras que los índices de uniformidad y de Margalef alcanzaron mayores valores en B-Cd con respecto a A-Cd. En cuanto a los índices de diversidad beta, se identificó baja similaridad (Jaccard < 0,5 y Bray-Curtis > 0,5) y tasa de recambio (Whittaker: 1,64) entre las comunidades de HFMA presentes en ambos suelos. Por otra parte, el ACP reveló que dos componentes explican el 64,7 % de la variabilidad total de las morfoespecies de HFMA encontradas en este



**Figura 2.** Riqueza (a), abundancia (b) y diversidad (c) de hongos formadores de micorrizas arbusculares (HFMA) encontrados en suelos con baja (B-Cd) y alta (A-Cd) concentración de Cd, en muestras del suelo original (Original) y después de multiplicar sus esporas mediante plantas trampa durante seis meses (Multiplicado). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes según las pruebas de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ;  $n=12$ ). Las diferentes texturas en la figura (a) corresponden a los géneros de las morfoespecies encontradas.

estudio (Fig. 4a); esta variabilidad se distribuyó en un 56,8 % para el componente uno y un 7,9 % para el componente dos. En el componente uno se representó un 65,2 % de todas las morfoespecies de HFMA ( $R^2 > 0,6$ ), mientras que al componente dos correspondió el 4,3 % ( $R^2 > 0,5$ ) (Tabla S1). El ACP y el clúster jerárquico mediante la distancia de disimilaridad de Bray-Curtis ( $p < 0,05$ ) evidenció que las morfoespecies se agrupan de acuerdo con el origen del suelo con diferentes contenidos de Cd (B-Cd y A-Cd) (Fig. 4b).

## DISCUSIÓN

La alta concentración de Cd total presente en las muestras A-Cd (27,3 mg kg<sup>-1</sup>) puede estar relacionada

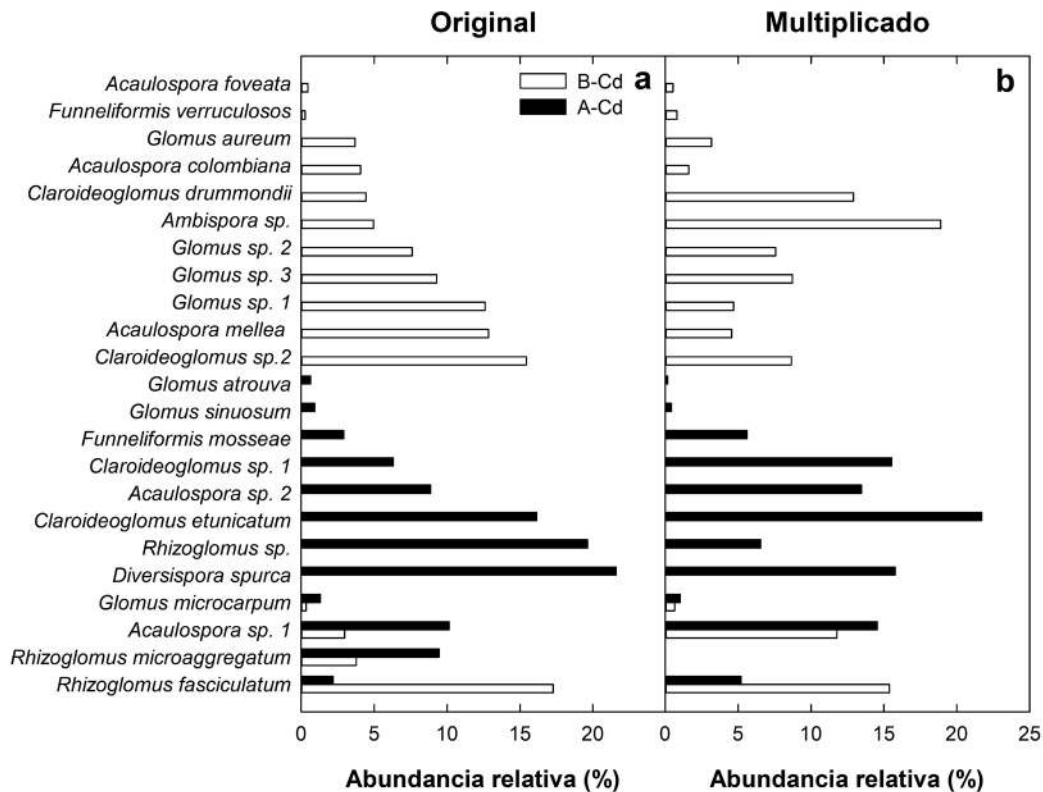
con el material parental sedimentario presente en esta zona de Yacopí, en donde se han reportado *cherts*, calizas, areniscas y *shales* negros (IGAC, 2000). En este último tipo de roca encontrada en otros suelos, se han reportado concentraciones hasta 200 mg kg<sup>-1</sup> de Cd (He *et al.*, 2005), por lo que los suelos desarrollados a partir de estas rocas pueden reflejar este tipo de composición química. Por otra parte, la alta concentración de Cd disponible en A-Cd (20,9 mg kg<sup>-1</sup>) puede estar relacionada con la moderada acidez del suelo (5,9) y la presencia de carbonatos en la zona (Rodríguez *et al.*, 2019), ya que el Cd puede encontrarse disponible en las fracciones acida soluble (Chavez *et al.*, 2016) y las dependientes de carbonatos (Rodríguez *et al.*, 2019). Otros elementos además del Cd, como Zn, Cu y Mn, se encontraron en mayor concentración en A-Cd, pero dentro del rango normal para suelos (Kabata-Pendias y Barbara, 2015).

La alta concentración y disponibilidad de Cd asociada al material parental sedimentario de la región impone una condición de estrés continua y constante que modifica la estructura de la comunidad de HFMA (Millar y Bennett, 2016). En las muestras de suelo rizosférico de cacao que poseían una alta concentración de Cd se encontró menor riqueza, abundancia y diversidad de morfoespecies de HFMA, con respecto a las encontradas en la localidad cercana con una baja concentración de Cd (Fig. 2), siendo estas dos últimas significativamente diferentes. Resultados similares se encontraron en suelos contaminados por actividades antropogénicas con concentraciones superiores a 2,8 mg kg<sup>-1</sup> Cd, los cuales presentaron menor riqueza (Vogel-Mikuš *et al.*, 2005), abundancia y diversidad de HFMA (Del Val *et al.*, 1999; Hassan *et al.*, 2011). El Cd es un elemento que, en condiciones *in vitro*, ha mostrado inhibir la germinación de las esporas, restringir el desarrollo de las hifas e interferir con su ciclo de vida (Weissenhorn *et al.*, 1993), por lo que

**Tabla 2.** Índices de diversidad alfa y beta de HFMA encontrados en muestras originales de suelos con baja (B-Cd) y alta (A-Cd) concentración de Cd.

Índice	Tipo de suelo		p-valor
	B-Cd	A-Cd	
Diversidad Alfa			
Simpson	0,129b	0,170a	***
Uniformidad	0,852a	0,800b	***
Margalef	1,960a	1,681b	***
Diversidad Beta			
Whittaker	1,64		
Coeficiente de Jaccard	0,17		
Coeficiente de Bray-Curtis	0,66		

p-valores generados por el análisis de varianza (\*\*\*:  $p < 0,001$ ,  $n=4$ ). Valores con la misma letra no son estadísticamente diferentes según las pruebas de Tukey ( $\alpha < 0,05$ ;  $n=4$ ).



**Figura 3.** Abundancias relativas de morfoespecies de HFMA encontradas en suelos con baja (B-Cd) y alta (A-Cd) concentración de Cd, en muestras de suelo originales (a) y posterior a su multiplicación en plantas trampa de cebolla durante seis meses (b).

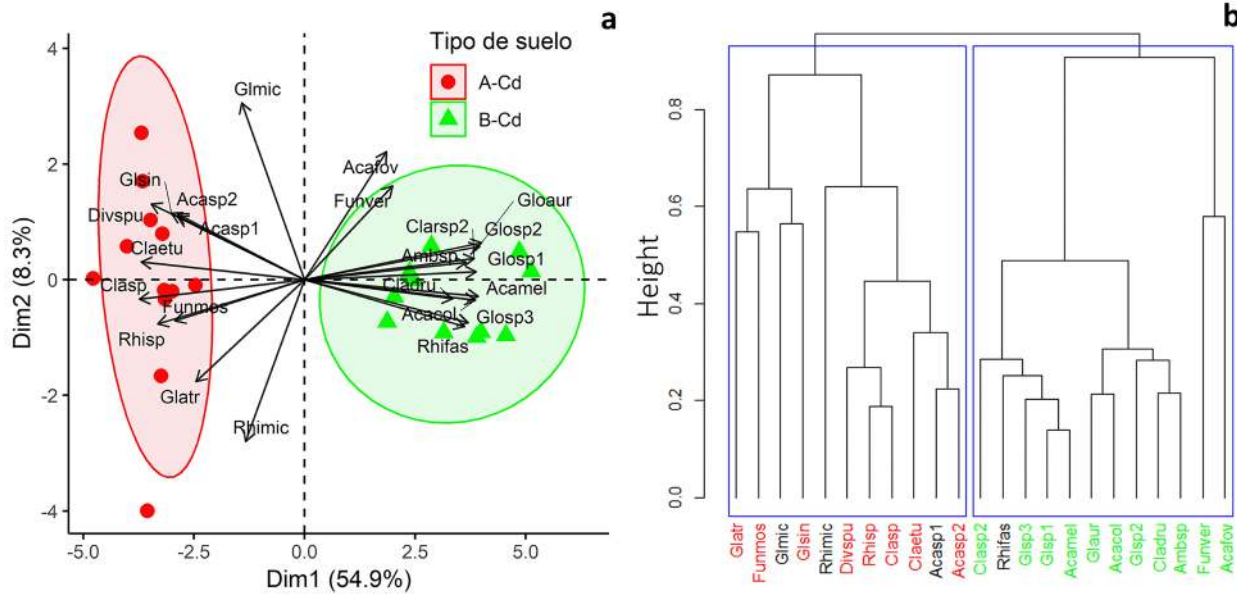
su presencia puede alterar la estructura de la comunidad al remover las especies más sensibles y favorecer aquellas con mayor adaptación (Schneider *et al.*, 2016).

Los HFMA han demostrado adaptabilidad para estar presentes en diversos ambientes extremos (Weissenhorn *et al.*, 1993). En este caso, un suelo enriquecido naturalmente con altas concentraciones de Cd proporciona una condición de estrés constante y continua que selecciona a las especies, no solo por su funcionalidad ecosistémica, sino por su capacidad de adaptación al estrés (Millar y Bennett, 2016). Se sugiere que la persistencia de algunos HFMA en estos ambientes está asociada a diferentes mecanismos de tolerancia a la presencia de MPs, como secreción de quelatinas, síntesis de glicoproteínas como la glomalina (Leal *et al.*, 2016) y retención en su pared celular por grupos carboxilo e hidroxilo (Khan, 2006), así como la detoxificación y acumulación de iones metálicos en vacuolas mediante metalotioneinas (Meier *et al.*, 2012).

Los géneros detectados en A-Cd (Fig. 2a), como *Glomus*, *Acaulospora*, *Claroideoglomus* y *Funnelformis*, se han reportado en suelos contaminados con  $3,1 \text{ mg kg}^{-1}$  Cd (Krishnamoorthy *et al.*, 2015) y  $3,12 \text{ mg kg}^{-1}$  Cd (Xu *et al.*, 2017). Interesantemente, aunque A-Cd y B-Cd presentaron similitud en su composición por géneros (cinco de siete en común, Fig. 2a), fueron diferentes en términos de

morfoespecies (cuatro de 23 en común, Fig. 3a). Esto podría indicar que las morfoespecies presentes en A-Cd cuentan con una alta capacidad de adaptación y mecanismos de tolerancia que les permite persistir en un ambiente limitante (Weissenhorn *et al.*, 1993; Millar y Bennett, 2016), como altas concentraciones de Cd. Ejemplo de ello es la presencia de *C. etunicatum*, *F. mosseae* y *G. sinuosum* ((Gerdenmann y Bakshi) Almeida y Schenck) en A-Cd, que ya han sido reportados en suelos contaminados con Cd (Weissenhorn *et al.*, 1993; Del Val *et al.*, 1999; Krishnamoorthy *et al.*, 2015) y otro tipo de MPs como Cu y As (Hassan *et al.*, 2011) o Pb y Zn (Zarei *et al.*, 2008).

La alta capacidad de producción de esporas de las morfoespecies *C. etunicatum* y *R. fasciculatum* en A-Cd posterior al proceso de multiplicación en cultivos trampa (Fig. 3b) puede estar asociada a una estrategia de reproducción tipo -r (Chagnon *et al.*, 2013) o de colonización (Hart *et al.*, 2001), caracterizadas por una alta producción de esporas y mayores tasas de crecimiento que les confieren ventajas en la colonización del hospedero. Notablemente, *R. microaggregatum* fue la única morfoespecie que no se detectó posterior a los seis meses de cultivo trampa (Fig. 3b). Esto podría deberse a que existen diferencias en el tiempo de esporulación entre las especies de HFMA (Antoniolli *et al.*, 2002; Souza *et al.*, 2005) y en la capacidad de multiplicación



**Figura 4.** Análisis de componentes principales (a) y clúster jerárquico basada en la disimilaridad de Bray-Curtis (b) de las morfoespecies de HFMA encontradas en muestreos de dos suelos con bajo (B-Cd, verde) y alto (A-Cd, rojo) concentración de Cd o ambos (negro) (n=12). Los recuadros azules indican probabilidad (>95%) de la existencia de un clúster usando valor aproximado sin sesgo. Los nombres de las morfoespecies se encuentran abreviados de la siguiente manera: *Glomus microcarpum* (Glmic), *Rhizogloium fasciculatum* (Rhifas), *Glomus atrouva* (Glatr), *Claroideogloium* sp. 1 (Clasp1), *Rhizogloium* sp. (Rhisp), *Claroideogloium etunicatum* (Claetu), *Funneliformis mosseae* (Funmos), *Diversispora spurca* (Divspu), *Acaulospora* sp. 1 (Acasp1), *Acaulospora* sp.2 (Acasp2), *Glomus microaggregatum* (Glmic), *Glomus Sinuosum* (Glsin), *Glomus aureum* (Glaur), *Rhizogloium fasciculatum* (Rhifas), *Acaulospora foveata* (Acafov), *Glomus* sp.1 (Gls1), *Acaulospora colombiana* (Acacol), *Glomus microcarpum* (Glmic), *Glomus* sp.2 (Gls2), *Claroideogloium* sp.2 (Clasp2), *Glomus* sp.3 (Gls3), *Funneliformis verruculosus* (Funver), *Acaulospora mellea* (Acamel), *Ambispora* sp. (Ambsp), *Claroideogloium drummondii* (Cladru).

de las especies hospedero (Del Val *et al.*, 1999). Por estas razones, futuros estudios deberían contemplar el uso de más de una especie de planta trampa, diferentes tiempos de muestreo y otros aspectos que permitan multiplicar la totalidad de la diversidad de esporas presentes en los suelos. Adicionalmente, el uso de otros enfoques moleculares como metagenómica y análisis de polimorfismos alélicos (Sanders y Rodriguez, 2016) pueden brindar una mejor resolución y entendimiento de la diversidad de HFMA presentes en los suelos estudiados.

Los índices de diversidad alfa y beta permitieron contrastar las diferencias entre las comunidades de HFMA presentes en ambos suelos (Tabla 2). El índice de uniformidad, que oscila entre cero (heterogéneo) a uno (uniforme), permitió identificar que las comunidades de HFMA en B-Cd son más uniformes con respecto a las encontradas en A-Cd; esto fue confirmado por el índice de Simpson que presentó valores significativamente mayores en A-Cd con respecto a B-Cd, lo que indicaría que existe mayor dominancia por algunas morfoespecies como *Diversispora spurca* (24 %), *Rhizogloium* sp. (20 %) y *Claroideogloium etunicatum* (16 %), las cuales reunieron más del 50 % de la comunidad de HFMA presente en A-Cd (Fig. 3a). Los índices de diversidad beta indicaron bajas similaridad y tasa de recambio entre las comunidades de HFMA provenientes de B-Cd y A-Cd (Tabla

2), encontrando en común únicamente las morfoespecies *G. microcarpum*, *Acaulospora* sp., *R. microaggregatum* y *R. fasciculatum* (Fig. 3b). Esto sugiere que estas morfoespecies poseen una alta capacidad para tolerar ambientes con un amplio espectro de concentraciones de Cd.

La baja similaridad encontrada entre las comunidades de HFMA puede deberse a diferencias ecológicas en las estrategias de las historias de vida para maximizar su supervivencia en diferentes ambientes (Millar y Bennett, 2016). Las altas concentraciones de Cd pueden generar cambios en la proporción de tipos funcionales de HFMA a favor de especies estrés-tolerantes y limitar aquellas ruderales o competidoras. Las especies estrés-tolerantes de HFMA se caracterizan por tener mecanismos de tolerancia al estrés, bajas tasas de crecimiento y poca, pero longeva biomasa extraradical (Chagnon *et al.*, 2013), por lo que plantas perennes y con una tasa lenta de crecimiento, como el cacao, tienen una mayor probabilidad de verse beneficiadas por estas especies de HFMA. Adicionalmente, cualquier condición adversa que limite la fijación de carbono por las plantas, en este caso una alta concentración de Cd, es probable que afecte el flujo de carbono hacia los HFMA, por lo que las especies con un uso más eficiente del carbono, como las HFMA estrés-tolerantes, pueden ser las más beneficiadas a largo plazo (Chagnon *et al.*, 2013).



## CONCLUSIONES

La alta concentración y disponibilidad de Cd generan una condición de estrés continua y constante a la comunidad de HFMA afectando su estructura. En suelos cacaoteros enriquecidos naturalmente con Cd se encontró menor abundancia, riqueza y diversidad de morfoespecies de HFMA, así como comunidades de HFMA menos uniformes y con dominancia, con respecto a lo detectado en suelos con baja concentración de Cd. Las bajas similaridad y tasa de recambio entre las comunidades estudiadas pueden estar relacionadas con las diferencias en las estrategias de las historias de vida, encontrando mayor proporción de HFMA estrés-tolerantes en A-Cd, con una mayor abundancia a *D. spurca*, *Rhizoglyphus* sp. y *C. etunicatum*. La identificación de estas morfoespecies constituye el primer paso para el desarrollo de estrategias de mitigación de plantas crecidas en suelos con este tipo de estrés; sin embargo, su efecto en plantas de cacao debe ser evaluado y validado en experimentos de campo, ya que existe gran variabilidad en el tipo de respuesta de las plantas dependiendo de varios factores como la especie vegetal o de HFMA, la concentraciones de Cd y las propiedades físico-químicas del suelo, entre otras.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional de Colombia, al Fondo Nacional de Cacao y al proyecto “Mejoramiento de la tecnología de la productividad del cacao en las provincias de Rionegro y Alto Magdalena, Cundinamarca” por la financiación. A la doctora Margarita Ramírez de Agrosavia por su asesoría en la identificación morfológica. Al ingeniero Rafael Córdoba de la Federación Nacional de Cacaoteros por su apoyo en la colección de muestras en la región de Yacopí, así como a los agricultores de las fincas muestreadas. Al Ministerio del Medio Ambiente Desarrollo y Vivienda Territorial por el permiso marco de colecta 0255.

## CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no existen conflicto de intereses.

## REFERENCIAS

- Antoniolli ZI, Facelli E, O'Connor P, Miller D, Ophel-Keller K, Smith SE. Spore communities of arbuscular mycorrhizal fungi and mycorrhizal association in different ecosystems, South Australia. *Rev Bras Ciênc Solo*. 2002;26(3):627-635. Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-06832002000300007>
- Arévalo-Gardini E, Arévalo-Hernández CO, Baligar VC, He ZL. Heavy metal accumulation in leaves and beans of cacao (*Theobroma cacao* L.) in major cacao growing regions in Peru. *Sci Total Environ*. 2017;605-606:792-800. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.06.122>
- Audet P, Charest C. Dynamics of arbuscular mycorrhizal symbiosis in heavy metal phytoremediation: Meta-analytical and conceptual perspectives. *Environ Pollut*. 2007;147(3):609-614. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.envpol.2006.10.006>
- Bravo D, Pardo-Díaz S, Benavides-Erazo J, Rengifo-Estrada G, Braissant O, Leon-Moreno C. Cadmium and cadmium-tolerant soil bacteria in cacao crops from northeastern Colombia. *J Appl Microbiol*. 2018;124(5):1175-1194. Doi: <http://dx.doi.org/10.1111/jam.13698>
- Brundrett MC, Piche Y, Peterson RL. A new method for observing the morphology of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Can J Bot*. 1984;62(10):2128-2134. Doi: <https://doi.org/10.1139/b84-290>
- Brundrett MC, Tedersoo L. Evolutionary history of mycorrhizal symbioses and global host plant diversity. *New Phytol*. 2018; 220(4):1108-1115. Doi: <http://doi.wiley.com/10.1111/nph.14976>
- Chagnon P, Bradley RL, Maherali H, Klironomos JN. A trait-based framework to understand life history of mycorrhizal fungi. *Trends Plant Sci*. 2013;18(9):484-491. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.tplants.2013.05.001>
- Chavez E, He ZL, Stoffella PJ, Mylavarapu RS, Li YC, Moyano B, et al. Concentration of cadmium in cacao beans and its relationship with soil cadmium in southern Ecuador. *Sci Total Environ*. 2015;533:205-214. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.06.106>
- Chavez E, He ZL, Stoffella PJ, Mylavarapu RS, Li YC, Baligar VC. Chemical speciation of cadmium: An approach to evaluate plant-available cadmium in Ecuadorian soils under cacao production. *Chemosphere*. 2016;150:57-62. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.02.013>
- Del Val C, Barea JM, Azcón-Aguilar C. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus populations in heavy-metal-contaminated soils. *Appl Environmental Microbiol*. 1999;65(2):718-723.
- FAO, OMS. Proposed draft maximum levels for cadmium in chocolate and cocoa-derived products. Programa Conjunto FAO/OMS sobre normas alimentarias comisión del codex sobre contaminación en los alimentos. 2014;6:1-20.
- Gramlich A, Tandy S, Andres C, Chincheros Paniagua J, Amengot L, Schneider M, et al. Cadmium uptake by cocoa trees in agroforestry and monoculture systems under conventional and organic management. *Sci Total Environ*. 2017;580:677-686. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.12.014>
- Gramlich A, Tandy S, Gauggel C, López M, Perla D, Gonzales V, et al. Soil cadmium uptake by cocoa in Honduras. *Sci Total Environ*. 2018;612:370-378. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.08.145>
- Hart MM, Reader RJ, Klironomos JN. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their

- successional dynamics. *Mycologia*. 2001;93(6):1186. Doi: <http://doi.org/10.2307/3761678>
- Hassan Seld, Boon E, St-Arnaud M, Hijri M. Molecular biodiversity of arbuscular mycorrhizal fungi in trace metal-polluted soils. *Mol Ecol*. 2011;20(16):3469-3483. Doi: <http://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05142.x>
- Hazard C, Gosling P, Gast CJ, Mitchell DT, Doohan FM, Bending GD. The role of local environment and geographical distance in determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at the landscape scale. *ISME J*. 2012;7(3):498-508. Doi: <http://doi.org/10.1038/ismej.2012.127>
- He ZL, Yang XE, Stoffella PJ. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. 2005;19(2-3):125-140. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.jtemb.2005.02.010>
- Hildebrandt U, Regvar M, Bothe H. Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance. *Phytochemistry*. 2007;68(1):139-146. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.phytochem.2006.09.023>
- IGAC. Instituto Geográfico Agustín Codazzi. Estudio general de suelos y zonificación de tierras del departamento de Cundinamarca. Bogotá, Colombia: CARTOPRINT Ltda.; 2000. p. 1-571.
- Jiménez Tobón CS. Estado legal mundial del cadmio en cacao (*Theobroma cacao*): fantasía o realidad. *Producción+Limpia*. 2015;10(1):89-104.
- Kabata-Pendias A, Barbara S. Trace Elements in Abiotic and Biotic Environments. Boca Raton, USA: CRC Press; 2015. p. 1-393.
- Kassambara A. Practical Guide to Principal Component Methods in R. 1ra edición. Marseille: STHDA; 2017. p.1-170.
- Khan AG, Kuek C, Chaudhry TM, Khoo CS, Hayes WJ. Role of plants, mycorrhizae and phytochelators in heavy metal contaminated land remediation. *Chemosphere*. 2000;41(1-2):197-207. Doi: [http://doi.org/10.1016/S0045-6535\(99\)00412-9](http://doi.org/10.1016/S0045-6535(99)00412-9)
- Khan AG. Mycorrhizoremediation - An enhanced form of phytoremediation. *J Zhejiang Univ Sci B*. 2006;7(7):503-514. Doi: <http://doi.org/10.1631/jzus.2006.B0503>
- Krishnamoorthy R, Kim C, Subramanian P, Kim K, Selvakumar G, Sa T. Arbuscular mycorrhizal fungi community structure, abundance and species richness changes in soil by different levels of heavy metal and metalloids concentration. *PLoS One*. 2015;10(6):e0128784. Doi: <http://doi.org/10.1371/journal.pone.0128784>
- Lanza J, Churion P, Liendo N, López V. Evaluación del contenido de metales pesados en cacao (*Theobroma cacao* L.) de Santa Bárbara de Zulia, Venezuela. *Saber, Univ Oriente*. 2016;28(1):106-115.
- Leal PL, Varón-López M, Oliveira IGde, Santos JVDos, Soares CRFS, Siquiera JO, *et al*. Enrichment of arbuscular mycorrhizal fungi in a contaminated soil after rehabilitation. *Brazilian J Microbiol*. 2016;47(4):853-862. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.06.001>
- Lora R, Bonilla H. Remediation of a soil contaminated with the heavy metals cadmium and chromium on the high basin of the Bogota river. *Rev UDCA Actual y Divulg Cient*. 2010;13(2):61-70.
- Mahar A, Wang P, Ali A, Awasthi KM, Lahori AH, Wang Q, *et al*. Challenges and opportunities in the phytoremediation of heavy metals contaminated soils: A review. *Ecotox Environ Safe*. 2016;126:111-121. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2015.12.023>
- Meier S, Borie F, Bolan N, Cornejo P. Phytoremediation of metal-polluted soils by arbuscular mycorrhizal fungi. *Crit Rev Environ Sci Technol*. 2012;42(7):741-775. Doi: <http://doi.org/10.1080/10643389.2010.528518>
- Meter A, Atkinson RJ, Laliberte B. 2019. Cadmio en el cacao de América Latina y el Caribe-Análisis de la investigación y soluciones potenciales para la mitigación. Roma: Bioversity International; 2019. p. 1-83.
- Millar NS, Bennett AE. Stressed out symbiotes: hypotheses for the influence of abiotic stress on arbuscular mycorrhizal fungi. *Oecologia*. 2016;182(3):625-641. Doi: <http://doi.org/10.1007/s00442-016-3673-7>
- Morton JB, Bentivenga SP, Bever JD. Discovery, measurement, and interpretation of diversity in arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes). *Can J Bot*. 1995;73(S1):25-32. Doi: <http://doi.org/10.1139/b95-221>
- Oehl F, Sieverding E, Palenzuela J, Ineichen K, Silva GAD. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA Fungus*. 2011;2(2):191-199. Doi: <http://doi.org/10.5598/imafungus.2011.02.02.10>
- Oehl F, Laczko E, Oberholzer H-R, Jansa J, Egli S. Diversity and biogeography of arbuscular mycorrhizal fungi in agricultural soils. *Biol Fertil Soils*. 2017;53:777-797. Doi: <http://doi.org/10.1007/s00374-017-1217-x>
- Pagano MC, Persiano AIC, Cabello M, Scotti MR. Elements sequestered by arbuscular mycorrhizal spores in riverine soils: A preliminary assessment. *J Biophys Struct Biol*. 2010;2(2):16-21.
- Rodríguez A, Sanders IR. The role of community and population ecology in applying mycorrhizal fungi for improved food security. *ISME J*. 2015;9(5):1053-1061. Doi: <http://doi.org/10.1038/ismej.2014.207>
- Rodríguez Albarracín SH, Darghan Contreras AE, Henao MC. Spatial regression modeling of soils with high cadmium content in a cocoa producing area of Central Colombia. *Geoderma Regional*; 2019;16:e0214. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.geodrs.2019.e00214>
- Sanders IR, Rodríguez A. Aligning molecular studies of mycorrhizal fungal diversity with ecologically important levels of diversity in ecosystems. *ISME J*. 2016;10(12):2780-2786. Doi: <https://doi.org/10.1038/ismej.2016.73>
- Schenk NC, Perez Y. Manual for the Identification of VA

- Mycorrhizal Fungi. 3ra edición. Gainesville, FL: Sinergistic Publications; 1990. p. 1-286.
- Schneider J, Bundschuh J, do Nascimento CWA. Arbuscular mycorrhizal fungi-assisted phytoremediation of a lead-contaminated site. *Sci Total Environ.* 2016;572:86-97. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.07.185>
- Souza FAde, Dalpé Y, Declerck S, Providencia IE, Séjalon-Delmas N. Life history strategies in Gigasporaceae: insight from monoxenic culture. *Vitr Cult mycorrhizas.* 2005;4:73-91. Doi: [http://doi.org/10.1007/3-540-27331-X\\_5](http://doi.org/10.1007/3-540-27331-X_5)
- Pontes JSde, Oehl F, Pereira CD, Machado CTT, Coyne D, Silva DKAda, *et al.* Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian's Cerrado and in soybean under conservation and conventional tillage. *Appl Soil Ecol.* 2017;117-118:178-189. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.04.023>
- Suzuki R, Shimodaira H. Pvcust: An R package for assessing the uncertainty in hierarchical clustering. *Bioinformatics.* 2006;22(12):1540-1542. Doi: <http://doi.org/10.1093/bioinformatics/btl117>
- Svenningsen NB, Watts-Williams SJ, Joner EJ, Battini F, Efthymiou A, Cruz-Paredes C, *et al.* Suppression of the activity of arbuscular mycorrhizal fungi by the soil microbiota. *ISME J.* 2018;12:1296-1307. Doi: <http://doi.org/10.1038/s41396-018-0059-3>
- USDA. Natural Resources Conservation Service. Claves para la taxonomía de suelos. 12a edición. Washington, DC.: USDA-Natural Resources Conservation Service; 2014. p .1-410.
- Villarreal H, Álvarez M, Córdoba S, Escobar F, Fagua G, Gast F, *et al.*, editores. Métodos para el análisis de datos: una aplicación para resultados provenientes de caracterizaciones de biodiversidad. En: Manual de métodos para el desarrollo de inventarios de biodiversidad. Bogotá, Colombia: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander Von Humboldt; 2004. p. 187-225
- Vogel-Mikuš K, Drobne D, Regvar M. Zn, Cd and Pb accumulation and arbuscular mycorrhizal colonisation of pennycress *Thlaspi praecox* Wulf. (Brassicaceae) from the vicinity of a lead mine and smelter in Slovenia. *Environ Pollut.* 2005;133(2):233-242. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2004.06.021>
- Weissenhorn I, Leyval C, Berthelin J. Cd-tolerant arbuscular mycorrhizal (AM) fungi from heavy-metal polluted soils. *Plant Soil.* 1993;157(2):247-256. Doi: <http://doi.org/10.1007/BF00011053>
- Xu X, Chen C, Zhang Z, Sun Z, Chen Y, Jianget J, *et al.* The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. *Sci Rep.* 2017;7(45134):1-11. Doi: <http://doi.org/10.1038/srep45134>
- Zarei M, König S, Hempel S, Nekouei MK, Savaghebi G, Buscot F. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi associated to *Veronica rechingeri* at the Anguran zinc and lead mining region. *Environ Pollut.* 2008;156(3):1277-1283. Doi: <http://doi.org/10.1016/j.envpol.2008.03.006>

**TABLA SUPLEMENTARIA**

**Tabla S1.** Correlación de Pearson de las morfoespecies encontradas con las dimensiones del ACP. En negrilla se destacan los valores que se vieron representados en mayor proporción en cada dimensión ( $R^2 > 0,5$ ).

Morfoespecie	Dim1	Dim2	Dim3
<i>Glomus microcarpum</i>	0,10	<b>0,51</b>	0,01
<i>Glomus atrouva</i>	0,31	0,10	0,34
<i>Glomus Sinuosum</i>	<b>0,61</b>	0,07	0,01
<i>Rhizoglomus fasciculatum</i>	<b>0,67</b>	0,01	0,08
<i>Rhizoglomus</i> sp.	<b>0,60</b>	0,02	0,01
<i>Glomus microaggregatum</i>	0,09	0,45	0,37
<i>Claroideoglomus</i> sp. 1	<b>0,72</b>	0,01	0,01
<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	<b>0,71</b>	0,01	0,02
<i>Funneliformis mosseae</i>	0,44	0,02	0,04
<i>Acaulospora</i> sp. 1	0,42	0,06	0,05
<i>Acaulospora</i> sp. 2	0,42	0,07	0,08
<i>Diversispora spurca</i>	<b>0,62</b>	0,09	0,02
<i>Glomus aureum</i>	<b>0,83</b>	0,01	0,01
<i>Glomus</i> sp.1	<b>0,78</b>	0,02	0,01
<i>Glomus</i> sp.2	<b>0,81</b>	0,01	0,04
<i>Glomus</i> sp.3	<b>0,71</b>	0,01	0,06
<i>Claroideoglomus</i> sp.2	<b>0,76</b>	0,01	0,01
<i>Claroideoglomus drummondii</i>	<b>0,60</b>	0,02	0,02
<i>Funneliformis verruculosos</i>	0,20	0,10	0,25
<i>Acaulospora colombiana</i>	<b>0,77</b>	0,01	0,01
<i>Acaulospora mellea</i>	<b>0,80</b>	0,02	0,01
<i>Ambispora</i> sp.	<b>0,69</b>	0,03	0,01
<i>Acaulospora foveata</i>	0,18	0,25	0,36