

DIVERSIDAD FUNCIONAL DE LA COMUNIDAD MICROBIANA EDÁFICA Y MICOTROFÍA DE UN PATIO DE ROLAS SECUNDARIO Y UN BOSQUE SUCESIONAL DE LA RESERVA FORESTAL IMATACA

Functional diversity of the edaphic microbial community and mycotrophy of a secondary log landing and a successional forest of the Imataca Forest Reserve

Kleidy V. Ochoa^{1}, Nora Malaver² y Alicia Cáceres³*

Resumen

La Reserva Forestal Imataca es un área protegida de bosques húmedos tropicales, donde se realizan prácticas de manejo forestal, que generan impactos los cuales afectan a la microbiota edáfica. En el marco de un manejo forestal sustentable, a través de proyectos de restauración ecológica, se contrastó un área perturbada denominada patio de rolas secundario (PS) con un bosque con 18 años de sucesión (BR) mediante un análisis de diversidad funcional. Este análisis consistió en la evaluación del potencial bioquímico de la comunidad microbiana, y en el micotrófico que incluyó colonización micorrízica, densidad de esporas de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y actividad de la fosfatasa ácida y alcalina. Se encontraron diferencias en la diversidad funcional, resultando PS más heterogéneo que BR, además, de la existencia de redundancia funcional, indicando que las comunidades en PS presentan resiliencia a la perturbación. En el caso de la micotrofia, ambas localidades presentaron una elevada colonización micorrízica, superior al 50%. La densidad de esporas de HMA, fue significativamente mayor en BR que en PS y, en este último, hubo una menor actividad enzimática de la fosfatasa ácida y alcalina en las raíces. Sin embargo, aún bajo el efecto de este tipo de disturbio se mantuvieron diversas funciones en la comunidad microbiana edáfica, así como en el componente micorrízico, información básica que se debe tomar en cuenta para elaborar estrategias conducentes a la recuperación de áreas afectadas por el manejo forestal.

Palabras clave: diversidad funcional, sucesión vegetal, microorganismos, suelo, micorrizas arbusculares, Reserva Forestal Imataca.

[1] Universidad Central de Venezuela Facultad de Ciencias- Escuela de Biología. [2] Laboratorio de Ecología Microbiana -Instituto de Zoología y Ecología Tropical (IZET). [3] Laboratorio de Nutrición Mineral de Plantas Silvestres – Instituto de Biología Experimental (IBE). *Correo electrónico: kvickochoa@gmail.com

Abstract

The Imataca Forest Reserve is a protected area of tropical humid forests, where forest management practices are carried out, which generate impacts that affect the edaphic microbiota. Within the framework of sustainable forest management, through ecological restoration projects, a disturbed area called secondary log landing (PS) was contrasted with a forest with 18 years of succession (BR) through an analysis of functional diversity. This analysis consisted of evaluating the biochemical potential of the microbial community, and the mycotrophic potential that included mycorrhizal colonization, arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) spore density, and acid and alkaline phosphatase activity. Differences in functional diversity were found, resulting in PS being more heterogeneous than BR, in addition to the existence of functional redundancy, indicating that communities in PS are resilient to disturbance. In the case of mycotrophy, both localities presented a high mycorrhizal colonization, greater than 50%. The density of AMF spores was significantly higher in BR than in PS and, in the latter, there was a lower enzymatic activity of acid and alkaline phosphatase in the roots. However, even under the effect of this type of disturbance, various functions were maintained in the edaphic microbial community, as well as in the mycorrhizal component, basic information that must be taken into account to develop strategies leading to the recovery of areas affected by forest management.

Keywords: functional diversity, plant succession, microorganisms, soil, arbuscular mycorrhizal, Imataca Forest Reserve.

Introducción

La Reserva Forestal Imataca (RFI), es una importante área protegida de bosques tropicales húmedos, que cuenta con una amplia diversidad de plantas vasculares endémicas, que representa el 63,8% de las familias vegetales en Venezuela (Lozada *et al.* 2011).

En la RFI se han realizado prácticas de manejo forestal desde el año 1968, y a partir del año 2010, se ha implementado un manejo forestal sustentable (MFS), el cual toma en cuenta la ecología del sistema, el enfoque social y económico

(ENAFOR,2017). El MFS busca garantizar la funcionalidad, supervivencia y productividad de los ecosistemas en el tiempo (Chheng *et al.* 2015; Cáceres *et al.* 2018).

El MFS en la RFI, se realiza bajo el modelo de espina de pescado optimizado (Figura 1), el cual consta de un patio de rolas principal, unido a la vía principal, adicionalmente cuenta con ramificaciones, en las cuales se encuentran los patios de rolas secundarios conectados a las áreas de extracción (Lozada *et al.* 2006). Es en la fase de planificación del manejo, en la cual tiene lugar la creación de los patios de rolas secundarios, que, a diferencia de los patios principales, éstos

son los lugares de almacenamiento temporal de las rolas, luego de ser aprovechadas las zonas de extracción (Padilla, 2003; Lozada *et al.* 2006; ENAFOR, 2017).

En esta fase del manejo, se utiliza maquinaria pesada para el retiro total de la cobertura vegetal y el transporte de las rolas; lo cual trae como consecuencia la disminución de la capa orgánica, aumento de la erosión y compactación del suelo, que afecta las funciones edáficas relacionadas con su estructura, las interacciones microbianas y, por consiguiente, a los ciclos biogeoquímicos (Araujo *et al.* 2013; Naghdi y Solgi, 2014; FAO, 2015; Mayer *et al.* 2020). Es importante destacar que, una vez abandonados los patios de rolas secundarios, comienza la sucesión secundaria mediada por los propágulos de bosques cercanos a las áreas perturbadas.

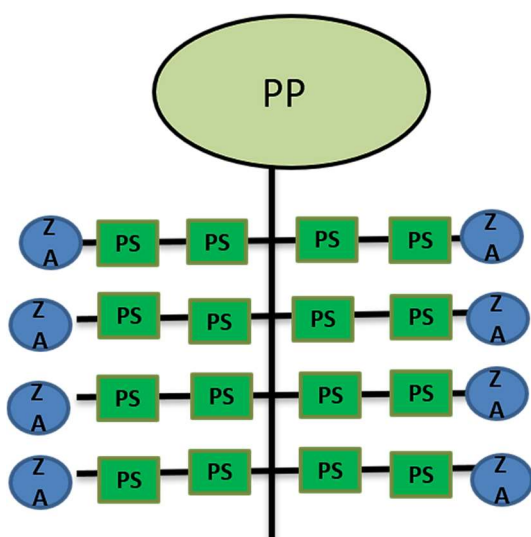


Figura 1. Modelo de espina de pescado optimizado usado en el manejo forestal sustentable. PP: Patio principal, PS: Patio Secundario, ZA: Zona de aprovechamiento.

Numerosas investigaciones, señalan la importancia de cuantificar y evaluar las variaciones de la actividad de la microbiota edáfica (hongos filamentosos, simbioses y bacterias), debido a su importante participación en la descomposición y mineralización de la materia orgánica (Álvares, 2010; Gianfreda, 2015; Heděnc *et al.* 2017; Paula *et al.* 2014). Estos microorganismos a través de su funcionalidad metabólica, que es mediada por enzimas extracelulares, hidrolizan sustratos carbonados y formas orgánicas significativas en la nutrición mineral, convirtiéndolos en productos asimilables en los ciclos biogeoquímicos (Paula *et al.* 2017; Shi *et al.* 2019).

Después del disturbio producido por el manejo forestal se inician los procesos de sucesión vegetal y con ello los cambios en las condiciones bióticas y abióticas del suelo, producto del recambio en la estructura y función de la comunidad microbiana, además, del mejoramiento de algunas condiciones edáficas como agregación del suelo, la estructura y la humedad (Peay *et al.* 2013; Paula *et al.* 2014).

Además de la funcionabilidad microbiana en el suelo, existen interacciones importantes en los procesos ecológicos que involucran la nutrición mineral de las plantas, importante en la recuperación de ecosistemas perturbados. Entre la más ubicua y conocida interacción entre plantas y microorganismos, se encuentran las micorrizas arbusculares (MA), consideradas una simbiosis mutualista que se establece entre algunos hongos edáficos y las raíces de

la inmensa mayoría de las plantas. En este estudio, cuando se evalúa la micotrofia nos referimos al grado en que las plantas vasculares dependen o se encuentran colonizadas por estos organismos (Baylis, 1972; Brundrett y Abott, 1996; Cuenca, 2004; Cáceres *et al.* 2011).

Los hongos micorrízicos arbusculares (HMA), son microorganismos simbioses pertenecientes al phylum Glomeromycota, que se encuentran asociados a las raíces de las plantas, a partir de estructuras de colonización vegetal (Brundrett y Abott, 1996). En la interacción, el hongo recibe compuestos carbonados por parte la planta, y la misma es favorecida a partir de las hifas, las cuales actúan como extensión de la raíz, aumentando el volumen de exploración del suelo, beneficiando la captación y absorción de agua y nutrientes, principalmente de aquellos con poca movilidad y disponibilidad en el suelo como el nitrógeno y el fósforo (Brundrett y Abott, 1996; Barea *et al.* 2005; Barrer, 2009).

Estos microorganismos del suelo, establecen entre sí relaciones sinérgicas que potencian el efecto benéfico sobre las plantas, y contribuyen al avance de la sucesión vegetal que se traduce en un equilibrio biológico y funcional en el suelo (Barea *et al.* 1996; Richardson *et al.* 2009).

A través de los años, en Venezuela ha incrementado el interés por parte de diversos investigadores de desarrollar proyectos de restauración ecológica en áreas como sabanas y bosques tropicales afectados por actividades antrópicas, ya que estos ecosistemas albergan una gran diversidad de

especies, sin embargo, pocos son los trabajos que toman en cuenta las interacciones y funcionalidad microbiana, como indicadores del estado de recuperación de las áreas perturbadas (Cuenca, 2004; Lovera y Cuenca, 2007; Cáceres *et al.* 2018; Zamora y Malaver, 2019).

Esta investigación tiene como objetivo principal, evaluar la diversidad funcional de la microbiota del suelo y el estado micorrízico en un bosque de referencia y un patio de rolas secundario. Este estudio, permitirá conocer cómo el manejo forestal, específicamente el establecimiento de patios de rolas secundarios, afecta el potencial bioquímico de los hongos filamentosos y bacterias cultivables de vida libre, además del estatus micorrízico de las plantas posterior a la perturbación. En el contexto del MFS, el estudio de los parámetros evaluados en la RFI, aportaran información sobre el efecto de este tipo de perturbación sobre las comunidades microbianas, que permitirá desarrollar estrategias de restauración y conservación de las áreas afectadas.

Materiales y Métodos

Área de estudio

La RFI se ubica al noreste de Venezuela entre los estados Delta Amacuro y Bolívar, específicamente en las coordenadas 06° 00' y 08° 30' N y 59° 50 y 62° 10' O (MARN-UCV, 2003). Las áreas evaluadas, "Patio de rolas secundario" (PS) (E:693656, N:839632) con 6 meses de abandono al momento de realizar el muestreo, esta área cuenta con vegetación secundaria, y el

“Bosque de referencia” (BR) con 18 años de sucesión secundaria posterior a la perturbación de manejo forestal (E:696280, N:833434). Estas localidades pertenecen a la unidad V - Santa María III, ubicada en el centro oeste de la RFI (Figura 2).

Composición florística de las áreas evaluadas. Patio de rolas secundario

El patio de rolas secundario, cuenta con 7 familias entre las que se encuentran Chrysobalanaceae, Melinaceae, Poaceae, Fabaceae, Apocynaceae, Onygraceae y

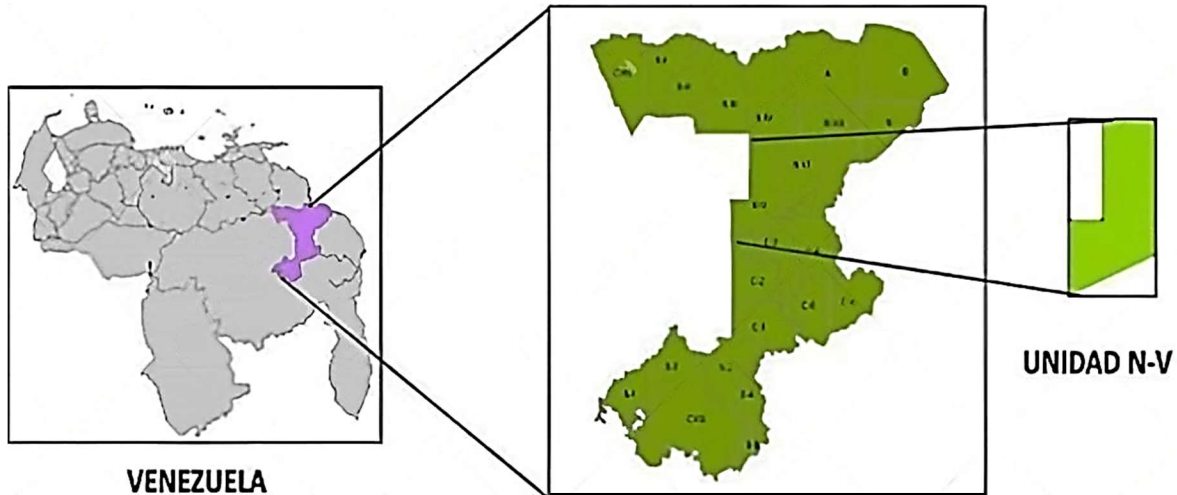


Figura 2. Ubicación de la Reserva Forestal Imataca y la unidad donde se ubican las áreas evaluadas (ENAFOR, 2012).

La RFI, posee una altitud promedio de 300 msnm, y temperatura media anual de 26 °C (Lozada *et al.* 2011). Según isotermas el patrón de precipitación es de 1700 mm y cuenta con una humedad entre 75 y 87% (Lozada *et al.* 2011; Usher, 2015).

Según el sistema de Holdrige se define como un Bosque Húmedo Tropical (BHT) (Ewel *et al.* 1976; Villanova *et al.* 2010) con una estructura de bosques altos siempreverdes (Huber y Alarcón, 1998). Sus suelos son franco-arenosos, oligotróficos, con valores de pH entre 5,5 y 6 (Lozada *et al.* 2011).

Cyperaceae y 13 especies vegetales, estas son: *Licania densiflora* (Hierrito), *Cedrela tonduzii* (Cedro dulce), *Ludwigia octovalvis* (Clavo de pozo), *Pentaclethra macroloba* (Clavelillo), *Aspidosperma pichonianum* (Canjilón), *Schrankia leptocarpa* (Jalapatras), *Mimosa pudica* (Dormidera), *Cyperius* sp.1, *Cyperius* sp.2, *Fibristilys* sp., *Panicum* sp., (gramíneas), (Identificación realizada por el Ingeniero Forestal José Gámez (datos sin publicar).

Composición florística de las áreas evaluadas. Bosque de referencia

El bosque de referencia cuenta con más de 31 especies vegetales identificadas, sin embargo, se seleccionaron aquellas especies que cuentan con un índice de importancia mayor a 7 contando con 6 familias entre las

que se encuentran: Fabaceae, Caesalpinaceae, Capparaceae, Celastraceae, Rutaceae Caryophyllaceae. Destacando 11 especies vegetales, estas son: *Alexa imperatricis* (Leche e cochino), *Eschweilera subglandulosa* (Majagüillo), *Pentaclethra macroloba* (Clavellino), *Capparis flexuosa* (Cacaito), *Senna reticulata* (Majagua), *Bauhinia glabra* (Bejuco blanco), *Aspidosperma pichonianum* (Canjilón), *Esenbeckia pilocarpoides* (Gaspadillo), *Saponaria officinalis* (Jabón), *Maytenus guyanensis* (Pilón), *Carapa guianensis* (Carapa), (Identificación realizada por el Ingeniero Forestal José Gámez (datos sin publicar).

Muestreo.

Se realizó un muestreo aleatorio simple, en el BR y el PS, recolectando 25 muestras de suelo en los primeros 30 cm del perfil. Posteriormente se realizaron 5 muestras compuestas de cada localidad (Figura 3).

Siembra y aislamiento de microorganismos

A través de la siembra en placas, se obtuvieron los aislados, bacterianos en agar nutritivo (AN) y fúngicos filamentosos en agar malta (AM). Se mezclaron 5 g de suelo en 95 ml de una solución 0,9 % de NaCl (modificado de Kirk *et al.* 2004), se mantuvo en agitación durante 24 horas. Posteriormente se tomó una alícuota de 1 ml para realizar diluciones seriadas 1/10 y 0,1 ml para la siembra en placas de Petri. Se aislaron aleatoriamente 100 cepas bacterianas, y 25 diferentes morfotipos fúngicos filamentosos.



Figura 3. Localidades de muestreo A: "Patio de rolas secundario" (PS). B: "Bosque de referencia" (BR). (Fotos Márquez, M).

Análisis funcional

Se evaluó el potencial bioquímico de diferentes aislados bacterianos y fúngicos filamentosos, observando su respuesta ante las siembras en diferentes sustratos:

- Polisacáridos: Celulosa, lignina, pectina (modificado de León *et al.* 2009). Crecimiento de las cepas ante una fuente única de carbono.
- Agar Almidón: hidrólisis del sustrato (Cowan y Steel, 1993).
- Fermentación de azúcares simples: Agar hierro de Kligler.
- Lípidos: Agar Tween 80.
- Nitrógeno: Gelatina (hidrólisis de proteínas). Hidrólisis de urea- caldo urea. (Cowan y Steel, 1993).

- Solubilización de fosfatos: Agar YED-P, visualización de los halos en el medio (yeast extract dextrose phosphate) (Peix *et al.* 2001). En el caso de los aislados fúngicos, se empleó caldo lactosa y caldo glucosa en la prueba de fermentación de azúcares.

Se calculó un valor de frecuencia relativa (N° de cepas que utilizan el sustrato / N° total de cepas), y mediante un análisis de agrupamiento (cluster analysis), se identificó la presencia de grupos funcionales (GF), como conjunto de organismos cuya respuesta es similar, y grupos de identidad funcional (GIF), como 2 o más cepas que realizan la misma función. Se calculó el índice de diversidad funcional (GF / N° total de cepas), distancia máxima de agrupamiento (DMA) indicando la mayor distancia en la que se separan los GF y la diversidad beta (Ramos, 1996; Zamora *et al.* 2012, 2019). Finalmente, se realizó un análisis de componentes principales (ACP), con valores centrados y estandarizados.

Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) *Densidad de esporas*

Se realizó el aislamiento de esporas a partir de 50 g de suelo de cada muestra (PS y BR), utilizando el método de tamizado y decantado húmedo, modificado por Sieverding (1991). Posteriormente se realizó el conteo de las esporas con un microscopio estereoscópico a aumento de 40X.

Colonización

Se aislaron raíces finas del BR y el PS y se realizó la tinción través del método de Phillips y Hayman, (1970). La cuantificación de las estructuras

micorrízicas se realizó con un microscopio óptico a objetivo de 60x y 100x, según el método de McGonigle *et al.* (1990).

Actividad enzimática de las fosfatasas ácidas y alcalinas en raíces

Se evaluó a partir del método de determinación colorimétrica del p-nitrofenol (pNP), este fue liberado durante la incubación del extracto de raíces con una solución tamponada (pH 4,0 y 8,5) de p-nitrofenilfosfato (pNPP) (Gianinazzi *et al.* 1979). Para los datos de micotrofia se realizó la prueba paramétrica de ANOVA. Los datos fueron analizados con el programa estadístico PAST 4.

Resultados y discusiones

La Figura 4, representa mediante un análisis de componentes principales (ACP), la relación de los diferentes sustratos con las localidades evaluadas. Además, se observa separación en cuadrantes distintos de las muestras bacterianas de las localidades BR y PS, indicando diferencias funcionales.

Se detectaron diferencias en la diversidad funcional entre PS y BR (Tabla I). Tanto el índice de diversidad funcional (IDF), como el índice de diversidad beta, que representa el recambio de las especies, mostraron valores mayores en el área perturbada respecto a BR, al igual que el número de grupos funcionales (GF) y la distancia máxima de agrupamiento (DMA), lo cual indica que hay mayor variabilidad entre las comunidades microbianas presentes en el suelo de PS.

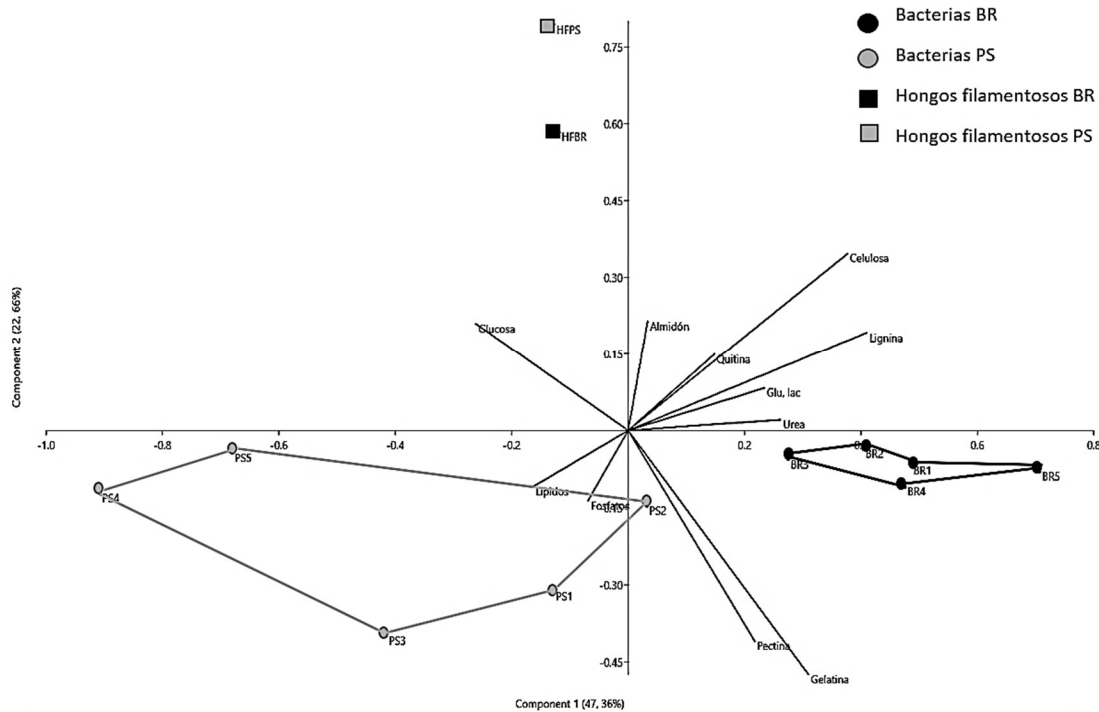


Figura 4. Análisis de componentes principales (ACP) de las diferentes variables fisiológicas, asociadas a la comunidad microbiana edáfica de las localidades evaluadas, bosque de referencia (BR) y el patio de rolas secundario (PS). HFBR: hongos filamentosos del bosque de referencia, HFPS: hongos filamentosos del patio de rolas secundario, Glu, Lac: glucosa, lactosa. Los círculos representan la comunidad bacteriana y los cuadrados la comunidad fúngica, siendo negros para BR y grises para PS. Se presentan el primer y segundo componente que recogen el 47,36% y 22,66% de la varianza respectivamente.

Según Chang *et al.* (2017), la intensidad de la perturbación puede ejercer una presión selectiva (reducción del éxito reproductivo o funcional de una población) de la comunidad microbiana, definiendo diferencias en su actividad fisiológica; además, los procesos de disturbio probablemente aumenten recambio entre las comunidades microbianas y la competencia por nutrientes o condiciones abióticas favorables (Liu *et al.* 2019). El polígono de menor tamaño representado por la comunidad bacteriana del BR (Figura 4), se ubica en un solo cuadrante (IV), y presenta solapamiento entre muestras del BR, indicando homogeneidad, asimismo se

relaciona con el menor IDF y la diversidad beta de la localidad BR, la cual presenta mayor número de cepas funcionalmente equivalentes (Tabla I). Este resultado, probablemente se asocia a que la diversidad de organismos suele disminuir con la sucesión (Guariguata y Ostertag, 2002; Liu *et al.* 2019), tomando en cuenta que la actividad microbiana, y, las condiciones bióticas y abióticas favorables producto de la variedad de interacciones entre los microorganismos y vegetación en sucesión, reducen la presión selectiva en el ecosistema, disminuyendo la competencia (Miah *et al.* 2014).

Tabla I. Cuadro de análisis funcional: patio de rolas secundario (PS) y bosque de referencia (BR). GF: grupos funcionales, GIF: grupos de identidad funcional, IDF: índice de diversidad funcional, DMA: distancia máxima de agrupamiento.

Localidad	GF	GIF	IDF	Diversidad beta	Mayor # cepas	DMA
BR	56	20	0,50	0,30	15	1,7
PS	80	19	0,72	0,57	6	2

Por otra parte, los sustratos carbonados complejos, se asocian a la comunidad bacteriana proveniente de BR. Posiblemente, se deba a que los diversos polisacáridos empleados, constituyen productos fotosintéticos, (Paillié, 2012; Heděnac *et al.* 2017) y la quitina presente en estructuras fúngicas, y de artrópodos (Kellner y Vandenbol, 2010). Asimismo, existe un incremento en las comunidades microbianas capaces de utilizar azúcares simples y aminoácidos, derivado de los exudados rizosféricos por parte de las plantas (Grayston y Campbell, 1996; Grayston *et al.* 2001). Estos sustratos podrían ser más abundantes en bosques no intervenidos o recuperados, ya que cuentan con mayor cobertura vegetal y riqueza de especies que en las áreas perturbadas como el PS, donde existe un retiro total de la misma, producto de la apertura de patios en los procesos del manejo forestal.

El polígono de la comunidad bacteriana PS, abarca mayor espacio dentro del ACP, entre los cuadrantes III y IV, sin solapamiento entre las muestras, relacionado con lo enunciado en la tabla I, donde se destaca que PS posee mayor IDF y DMA, los cuales determinan la mayor separación de los

grupos funcionales y la diversidad de los mismos, indicando heterogeneidad en la funcionalidad de la comunidad (Zamora *et al.* 2012).

Respecto a la actividad solubilizadora de fosfatos y lípidos, las comunidades microbianas de los suelos de PS estuvieron positivamente relacionadas con ambos factores (Figura 4), probablemente asociado a una adaptación de estos microorganismos a las nuevas condiciones microclimáticas de este sitio y a la disponibilidad de estos sustratos. Se ha señalado, que a temperaturas extremas (> 45 °C) y valores de pH entre 5 y 6, generan una alta solubilización de fosfatos (Kang *et al.* 2002; Oves *et al.* 2009).

Esto, no coincide con lo reportado por Shi *et al.* (2019) en un bosque tropical en China, donde la perturbación de manejo forestal, afectaba negativamente a la riqueza de hongos solubilizadores de fosfatos.

Respecto a la comunidad fúngica filamentosa, las dos muestras analizadas presentan una similitud funcional (Figura 4), ya que en ambas localidades hay correlación positiva con diversos sustratos carbonados.

Este resultado podría asociarse a que son organismos con estructuras de resistencia “esporas” las cuales en algunas especies pueden persistir por más tiempo en ambientes perturbados (Kivlin y Hawkes, 2020).

En la figura 5, se observa un patrón homogéneo en BR con mayor asimilación de sustratos nitrogenados y carbonados. En el caso de los GIF identificados con asteriscos (2 y 12), son aquellos que poseen mayor número de cepas funcionalmente equivalentes, ambos de la comunidad bacteriana, específicamente el 2 con 15 cepas y de gran importancia ya que asimila todos los sustratos evaluados y el 12 con 10 cepas funcionalmente activa para la mayoría de los sustratos, excepto los lípidos.

En la figura 6, se visualiza mayor heterogeneidad entre los grupos funcionales, así como menos asimilación en los sustratos nitrogenados (urea y gelatina) y carbonados complejos (lignina, celulosa, pectina). Por otra parte, los GIF identificados con asteriscos (3 y 9) son aquellos que cuentan con mayor número de cepas en la localidad PS en este caso solo cepas bacterianas, específicamente el GIF 3 presentando 5 cepas y el GIF 9 presentando 6 cepas, el cual es el único que asimila todos los sustratos de esta localidad.

Los resultados obtenidos indican que existe redundancia funcional entre las dos localidades de estudio (BR y PS) (Figura 5 y 6), representadas por las cepas que asimilan todos los sustratos, encontradas en el GIF 2 en BR (Figura 5) y el GIF 9 en PS (Figura 6). Esto demuestra que hay cepas

GIF	pec	lig	cel	alm	lip	quit	gel	Sol P	Glu	GLS	Urea
1	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
2*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
3	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)
5	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
6	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
7	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
8	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)
9	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
10	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
11	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
12*	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
13	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)
14	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
15	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
16	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
17	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
18	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
19	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
20	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)

Figura 5. Espectro del uso sustrato en cada uno de los GIF del BR, GIF: grupo de identidad funcional pec: pectina, lig: lignina, cel: celulosa, alm: almidón, lip: lípidos, quit: quitina, gel: gelatina, Sol P: solubilizadores de fosfatos Glu: glucosa, GLS: glucosa, lactosa, sacarosa.

GIF	pec	lig	cel	alm	lip	quit	gel	Sol P	Glu	GLS	Urea
1	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(-)
3*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
5	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
6	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
7	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
8	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
9*	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
10	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
11	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
12	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
13	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)
14	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(-)
15	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
16	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
17	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)
18	(+)	(-)	(-)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
19	(+)	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(+)

Figura 6. Espectro de uso del sustrato en cada GIF del PS. GIF: grupo de identidad funcional pec: pectina, lig: lignina, cel: celulosa, alm: almidón, lip: lípidos, quit: quitina, gel: gelatina, Sol P: solubilizadores de fosfatos Glu: glucosa, GLS: glucosa, lactosa, sacarosa.

microbianas que abarcan un espectro ecológico similar en ambas localidades (Zamora y Malaver, 2019), y muestran diversidad y resiliencia por parte de algunos microorganismos edáficos (Kivlin y Hawkes, 2020) ante la perturbación producida por el manejo forestal.

Según Córdova-Tapia y Zambrano. (2015) y Zamora y Malaver. (2019), la existencia de redundancia funcional es de vital importancia, debido a que suele garantizar un ecosistema funcionalmente estable a pesar de la pérdida de especies luego de la perturbación. Wertz *et al.* (2007), indican que la diversidad dentro de los grupos funcionales se relaciona con la composición de especies, que posiblemente responden de manera distinta ante la perturbación, siendo esto un resultado importante en estos ecosistemas ya que podría predecir una alta resiliencia y/o resistencia, además de la recuperación de las propiedades ecosistémicas.

Según Liu *et al.* (2019), la diversidad microbiana en bosques degradados dependerá de la intensidad y frecuencia de la perturbación, además de la composición de la vegetación. Por su parte, Chang *et al.* (2017), no encontraron variaciones en la estructura comunitaria de los microorganismos edáficos bajo manejo forestal, en un bosque tropical en Taiwan, reportando similitudes entre bosques primarios, secundarios y perturbados, indicando que estas variaciones dependerán principalmente, del tipo de bosque afectado, y de la calidad de la materia orgánica, la reforestación de bosques y el recambio de especies vegetales.

Micotrofia

El porcentaje de colonización micorrízica de muestras de raíces recolectadas en las dos localidades de estudio, fue de $85,25 \pm 1,70$ % en BR y $50,12 \pm 0,81$ % en PS (Figura 7A). En cuanto a la densidad de esporas de HMA, fue mayor en la localidad BR con $537 \pm 3,18$

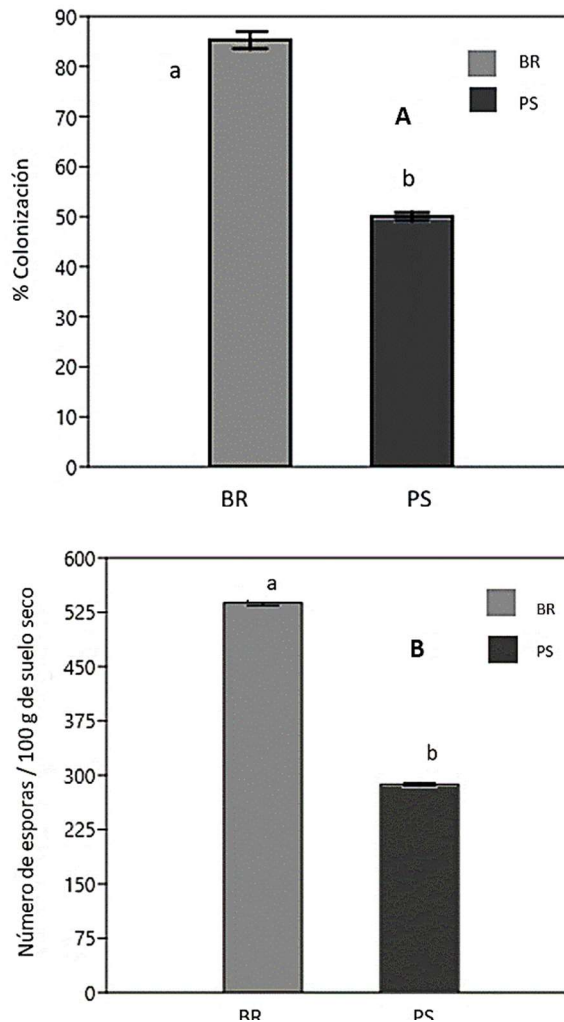


Figura 7. Porcentaje de colonización (A) y densidad de esporas de HMA (B) presentes en las muestras de suelo recolectadas en dos localidades en la Reserva Forestal Imataca. BR: bosque de referencia, PS: patio de rolas secundario. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA, $p < 0.05$).

esporas / 100 g de suelo seco, respecto a PS con $(287 \pm 2,05$ esporas/ 100g suelo seco). Los propágulos de HMA, suelen encontrarse en los primeros centímetros del suelo. En consecuencia, ante perturbaciones donde hay remoción de la vegetación y de los primeros horizontes superficiales del suelo, ocurre una importante disminución de los

propágulos de micorrizas, trayendo como resultado una reducción en la capacidad de recuperación de estos ecosistemas perturbados ya que afecta directamente los procesos de sucesión natural (Lovera y Cuenca, 2007; Kalinhoff *et al.* 2009; Rodríguez *et al.* 2011; Robinson *et al.* 2020). Sin embargo, los resultados en este trabajo mostraron valores altos de colonización micorrízica ($\geq 50\%$) en las raíces recolectadas en PS (Ferrer y Herrera, 1988).

Esto podría estar relacionado a la regeneración vegetal secundaria de especies pioneras, pertenecientes a familias altamente micotróficas como las Fabaceae, Poaceae y Meliaceae (Kalinhoff *et al.* 2009; Zapata *et al.* 2010; Zangaro *et al.* 2012; Vieira *et al.* 2012). En este sentido, se ha señalado que las especies arbóreas suelen ser altamente dependiente de la simbiosis micorrízica en comparación con las especies que poseen sistemas radicales más ramificados como las gramíneas (Flores y Cuenca, 2004; Cáceres y Cuenca, 2006; Rodríguez *et al.* 2011).

La densidad de esporas encontrada en las muestras de BR fue mayor en relación a lo encontrado en el PS, sin embargo, el valor en la localidad perturbada obtuvo un número alto de esporas, comparable con lo hallado por Cáceres *et al.* (2018) en un patio de rolas recuperado (232 esporas/ 100g de suelo seco). Estos resultados indican que los parámetros micorrízicos evaluados en PS no se encontraban muy afectados, posiblemente debido a la colonización temprana de especies pioneras micorrízicas de rápido crecimiento, que por su alta

actividad radical aumentan el inóculo natural de los HMA (Kalinhoff *et al.* 2009, Cáceres *et al.* 2018). Por lo contrario, Lovera y Cuenca (2007) encontraron que el número de esporas, así como la diversidad de HMA disminuyó drásticamente en comparación a la sabana natural, por efecto de la perturbación creada por el uso de maquinaria pesada para la construcción de una carretera en la Gran Sabana. En resumen, la frecuencia y la intensidad de las diferentes prácticas de manejo forestal influirán en la recuperación de las localidades perturbadas o degradadas.

Fosfatasa ácida y alcalina en HMA

En la Figura 8 se observó que las muestras de la localidad de referencia (BR) presentaron una actividad de la fosfatasa ácida (A) y fosfatasa alcalina (B) significativamente mayor a la obtenida en las muestras de PS, con un valor de $0,80 \pm 0,040$ $\mu\text{moles PNP/g} \times \text{h}$ en el caso de fosfatasa ácida, y $0,50 \pm 0,060$ $\mu\text{moles PNP/g} \times \text{h}$ para la fosfatasa alcalina. Los valores en el área perturbada fueron $0,27 \pm 0,081$ $\mu\text{moles PNP/g} \times \text{h}$ de fosfatasa ácida y $0,20 \pm 0,066$ $\mu\text{moles PNP/g} \times \text{h}$ de fosfatasa alcalina (ANOVA $p < 0.05$).

Diversos estudios indican que en bosques sucesionales la tendencia de estas enzimas es aumentar a medida que incrementa la complejidad florística (Welc *et al.* 2014; Chávez, 2014; Carrillo y Gavito, 2019). Por otro lado, se ha sugerido que existe una estrecha relación de estas isoenzimas y los HMA. Cáceres (2002), demostró la alta correlación que existe entre la colonización micorrízica y la actividad fosfatásica en dos especies arbóreas del género *Clusia*.

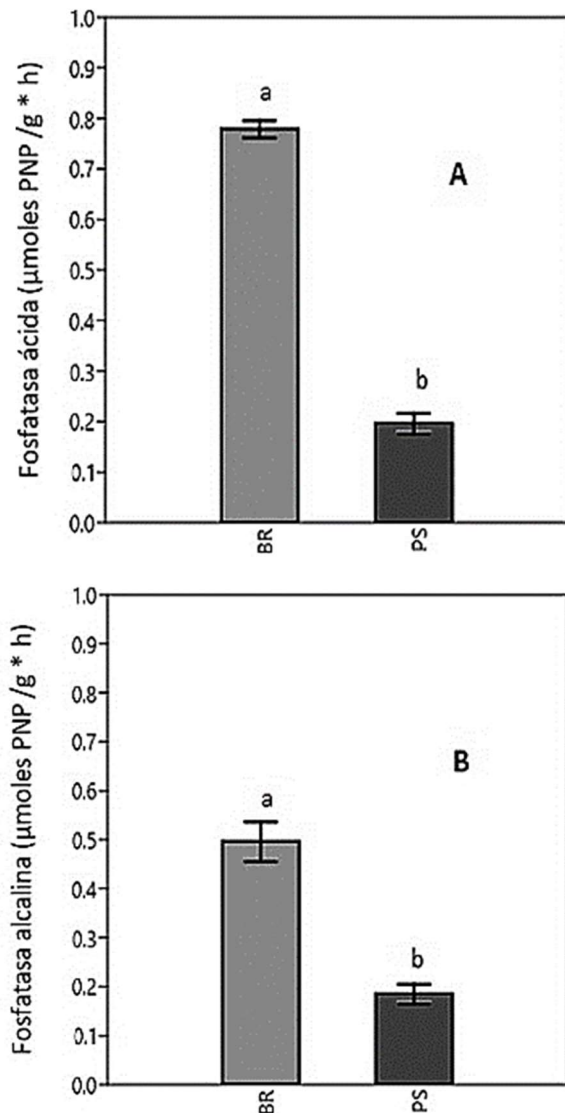


Figura 8. Actividad de la fosfatasa ácida (A) y alcalina (B) en muestras de raíces. BR: bosque de referencia, PS: patio de rolas secundario. Letras diferentes indican diferencias significativas (ANOVA $p < 0.05$).

En concordancia con lo señalado anteriormente, este estudio indicó que la mayor actividad enzimática (fosfatasa ácida y alcalina) en el BR, se relaciona con la mayor colonización micorrízica, y la complejidad de la cobertura vegetal.

Resultados similares son reportados por Cáceres *et al.* (2018), donde obtuvieron mayor actividad de la fosfatasa ácida en raíces provenientes del bosque de referencia respecto el patio recuperado por siembra de especies arbóreas y un patio de sucesión natural. McGuire *et al.* (2014) en un bosque tropical en Malasia, señalaron que la mayor actividad de la fosfatasa ácida se asoció a las áreas recuperadas, seguido del bosque primario, a diferencia del área perturbada.

Es importante señalar que el metabolismo del fósforo mediado por las fosfatasas en plantas micorrizadas, es un índice de funcionabilidad de la colonización, que indica el mejoramiento en la nutrición fosforada en las plantas.

Conclusiones

La deforestación producida en el patio de rolas secundario afectó la diversidad funcional de la comunidad microbiana edáfica (bacterias y hongos filamentosos de vida libre), representada por las diferencias en el potencial metabólico de los microorganismos; que indica que las comunidades del PS son más heterogéneas, por presentar una mayor diversidad funcional y beta (tasa de recambio de especies) que las comunidades provenientes del BR. En el BR las comunidades microbianas, presentan una tendencia más homogénea indicando menor diversidad funcional, que probablemente represente una estabilidad en la actividad microbiana a través de la sucesión. El hecho que el área perturbada presente dicho patrón heterogéneo en comparación al BR, posiblemente implique un mecanismo de

recuperación del ecosistema, ya que al existir actividad en diversas funciones asociadas al ciclaje de nutrientes, se garantizaría una mayor disponibilidad de nutrientes esenciales en los procesos de restauración ecológica.

La redundancia funcional entre cepas microbianas del BR y el PS, indican un papel ecológico similar entre las localidades, que sugiere que el mantenimiento de dicha redundancia genera en estos bosques una alta resiliencia, que a su vez va a depender de la frecuencia e intensidad de la perturbación en el ecosistema.

Aun cuando existen variaciones en el estatus micorrízico entre el patio de rolas secundario y el bosque de referencia, estos resultados indican la persistencia de propágulos de micorrizas en el área perturbada, que probablemente podría garantizar la recuperación de algunos de los mecanismos de regeneración natural del ecosistema.

Por otra parte, la menor actividad de la fosfatasa ácida y alcalina en PS coincide con la menor colonización, considerando esta actividad como un bioindicador de la funcionalidad en el metabolismo del fósforo en la planta y de la eficiencia de las especies de los HMA en la colonización.

Agradecimientos

Este trabajo está enmarcado en el proyecto “Ordenación Forestal Sustentable y Conservación de Bosques en la Perspectiva Ecosocial GCP/Ven/011/GFF” (2016), con

apoyo de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación (FAO) y el Fondo para el Medio Ambiente Mundial (GEF) y las comunidades Kariñas.

Referencias

Álvarez, J. 2010. Descomposición y ciclo de nutrientes, en ecosistemas terrestres de México, UNAM, México D.F.1- 23.

Araujo, A., Cesarz, S., Leite, L., Borges, C., Tsai, S., Eisenhauer, N. 2013. Soil microbial properties and temporal stability in degraded and restored lands of Northeast Brazil. *Soil Biology and Biochemistry*, 66: 175-181.

Barea, J., Requena, N., Jimenez, E. 1996. A revegetation strategy based on the management of arbuscular mycorrhizae, Rhizobium and rhizobacteria for the reclamation of desertified Mediterranean shrubland ecosystems. *Cahiers Options Méditerranéennes*; 20. 75-8.

Barea, J., Azcón, R., Azcón, C. 2005. Interactions between mycorrhizal fungi and bacteria to improve plant nutrient cycling and soil structure. *Verlag*, 195-212.

Barrer, S. 2009. El uso de hongos micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga Colombia. 7, 123- 132.

- Brundrett, M. y Abbott, L. 1996. Mycorrhizal fungus propagules in the Jarrah forest. In a seasonal study of inoculum levels. *New Phytologist*, 131: 461-469.
- Cáceres, A. 2002. Algunos Aspectos Funcionales de la Simbiosis con Micorrizas Arbusculares (MA) de Dos Especies Arbóreas del Género *Clusia* en el Bosque Nublado de Altos de Pipe. Tesis. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela. 172.
- Cáceres, A., y Cuenca, G. 2006. Contrasting response of seedlings of two tropical species *Clusia minor* and *Clusia multiflora* to mycorrhizal inoculation in two soils with different pH. *Trees*, 20(5), 593-600.
- Cáceres, A., Kalinhoff, C., Lugo, L., Villareal, A. 2011. Efecto de la perturbación producida por el establecimiento de conucos tradicionales Piaroa sobre las micorrizas Arbusculares en la Reserva Forestal Sipapo, estado Amazonas. La restauración ecológica en Venezuela fundamentos y experiencias. Ediciones IVIC. 61-72.
- Cáceres, A., Malaver, N., Hernández, I., Márquez, M., Cáceres, K. 2018. Proyecto GCP/VEN/011/GFF ordenación forestal sustentable y conservación de bosques en la perspectiva ecosocial. Componente 3: Restauración, conservación y MFS/MTS de bosques en zonas afectadas por procesos de degradación.
- Carrillo, S. y Gavito, M. 2019. The resilience of soil aggregation and exocellular enzymatic functions associated with arbuscular mycorrhizal fungal communities along a successional gradient in a tropical dry forest. *Mycorrhiza*. 1-12.
- Chang, E., Tian, G., Chiu, C. 2017. Soil microbial communities in natural and managed cloud montane forests. *Forests* 8: 33.
- Chheng, K., Mizoue, N., Khorn, S., Kao, D., Sasaki, N. 2015. Tree-based approach to evaluate size dependence of residual tree damage caused by selective logging: A case study in tropical semi-evergreen forests of Cambodia. *Forest Ecology and Management*, 356: 285- 292.
- Chávez, D. 2014. Soil quality assessment in agriculture, pasture and successional fields in the southern coast of Jalisco Mexico. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Córdova-Tapia, F. y Zambrano, L. 2015. La diversidad funcional en la ecología de comunidades. *Ecosistemas*, 24(3): 78-87.
- Cowan, S. y Steel, K. 1993. Cowan and Steel's manual for identification of medical bacteria. 3rd Edition, Cambridge University Press, 199-241.
- Cuenca, G. 2004. Las micorrizas Arbusculares y la restauración de sabanas tropicales en Venezuela. *Ecología de micorrizas Arbusculares y restauración de ecosistema ed. Las prensas de ciencias*. 185-203.

- ENAFOR. 2012. Diagnóstico de los aspectos socioculturales de las comunidades Indígenas de la Unidad N-V. Informe Técnico, Empresa Nacional Forestal. Caracas. Venezuela.
- ENAFOR (Empresa Nacional Forestal). 2017. PROYECTO GCP/VEN/0011/GFF Proyecto de ordenación forestal sustentable y conservación de bosques en la perspectiva ecosocial. Venezuela.
- Ewel, J., Madriz, A., Tosi, J. 1976. Zonas de vida de Venezuela. Ministerio de Agricultura y Cría, Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Caracas, Venezuela.
- FAO. 2015. Evaluación de los recursos forestales mundiales 2015 ¿Cómo están cambiando los bosques del mundo? 2da Ed. Roma, Italia.
- Ferrer, R. y Herrera, R., 1988. Micotrofia en Sierra del Rosario. Ecología de los bosques siempreverdes de la Sierra del Rosario, Cuba. Proyecto MAB No. 1, 1974-1987. *Rostlac*, 22: 473-484.
- Flores, C. y Cuenca, G. 2004. Crecimiento y dependencia micorrízica de la especie pionera y polenectarífera *Oyedaea verbesinoides* (Tara Amarilla), Asteraceae. *INCI*, 11: 29.
- GCP/VEN/011/GFF. 2016. Proyecto: Ordenación Forestal Sustentable y Conservación de Bosques en la Perspectiva Ecosocial. Venezuela.
- Gianfreda, L. 2015. Enzymes of importance to rhizosphere processes. *Soil Science and Plant Nutrition Journal* 15: 2.
- Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., Dexheimer, J. 1979. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhiza. III. Ultrastructural location of acid and alkaline phosphatase in onion roots infected by *Glomus mosseae* (Nicol. & Gerd.). *New Phytology*. 82, 127–132.
- Grayston, S. y Campbell, C. 1996. Functional biodiversity of microbial communities in the rhizospheres of hybrid larch (*Larix eurolepis*) and Sitka spruce (*Picea sitchensis*). *Tree. Physiology.*, 16:1031-1038.
- Grayston, S., Griffith, G., Mawdsley, L., Campbell, C., Bardgett, R. 2001. Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology and Biochemistry*, 33:533–551.
- Guariguata, M. y Ostertag, R. 2002. Neotropical secondary forest succession: changes in structural and functional characteristics. *Forest Ecology and Management*, 148: 185-206.
- Heděnc, P., Vinduškov, O., Kukla, J., Šnajdr, J., Baldrian, P. 2017. Enzyme activity of topsoil layer on reclaimed and unreclaimed post-mining sites. *Soil Biology and Biochemistry* 69: 19- 26.
- Huber, O. y Alarcón, C. 1998. Mapa de la vegetación en Venezuela. MARNR, División de vegetación Caracas.

- Kalinhoff, C., Cáceres, A., Lugo, L. 2009. Cambios en la biomasa de raíces y micorrizas arbusculares en cultivos itinerantes del Amazonas venezolano. *Interciencia*, 34(8), 571-576.
- Kang, S., Ha, G., Lee, T. Maheshwari, K. 2002. Solubilization of insoluble inorganic phosphates by a soil-inhabiting fungus sp. *Current Science* 79(5), 439-442.
- Kellner H. y Vandebol M. 2010. Fungi Unearthed: Transcripts Encoding Lignocellulolytic and Chitinolytic Enzymes in Forest Soil. *PloS one*, 5(6): e10971.
- Kivlin, S. y Hawkes, C. 2020. The spatial and temporal turnover of soil microbial communities is not linked to function in a primary tropical forest. *Ecology*. 101(4), 1-16.
- Kirk, J., Beaudette, L., Hart, M. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*, 58: 169-188.
- León, Y., De Sisto, A., Inojosa, Y., Malaver, N., Naranjo, L. 2009. Identificación de biocatalizadores potenciales para la remediación de desechos petrolizados de la Faja Petrolífera del Orinoco. *Revista de Estudios Transdisciplinarios*, 1(2):11-24.
- Lovera, M. y Cuenca, G. 2007. Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sábana natural y una sábana perturbada de la Gran Sabana, Venezuela. *Interciencia*, 32(2).
- Lozada, J., Guevara, J., Soriano, P., Costa, M. 2006. Estructura y composición florística de comunidades secundarias en patios de rola abandonados, estación experimental Caparo, Barinas, Venezuela. *Interciencia*, 31(11): 828-835.
- Lozada, J., Guevara, J., Hernández, C., Soriano, P., Costa, M. 2011. Los bosques de la zona central de la Reserva Forestal de Imataca, estado Bolívar, Venezuela. *Biollania*.10: 47-62.
- Liu, Y., Wang, S., Wang, Z., Zhang, Z., Qin, H., Wei, Z., Feng, K. 2019. Soil microbiome-mediated nutrients decline during the forest degradation process. *Soil Ecol Lett*. 1(1): 59-71.
- MARN-UCV. 2003. Bases Técnicas para el Ordenamiento Territorial de la Reserva Forestal Imataca. Ministerio del Ambiente y de los Recursos Naturales. UCV. Caracas. Venezuela.
- Mayer, M., Prescott, C. E., Abaker, W., Augusto, L., Cécillon, L., Ferreira, G., Vesterdal, L. 2020. Influence of forest management activities on soil organic carbon stocks: A knowledge synthesis. *Forestal Ecology Management*, 466: 118-127.
- McGonigle, T., Miller, M., Evans, D., Fairchild, G., Swan, J. 1990. A new method that gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytology* 115: 495-501.

- McGuire, K., D'Angelo, H., Brearley, F., Gedallovich, S., Babar, N., Yang, N., Mansor, P. 2014. Responses of soil fungi to logging and oil palm agriculture in Southeast Asian tropical forests. *Microbial Ecology*, 69(4): 733-747.
- Miah, S., Habiba, U., Haque, S.M., Shumi, W., Abdu, A., Shukor, N.A., Hossain, A. 2014. Effects of deforestation on physicochemical properties and microbial population of soils in a South-East Asian tropical forest. *Journal of Food, Agriculture, and Environment*. 12:986-991.
- Naghdi, R. y Solgi, A. 2014. Effects of skidder passes and slope on soil disturbance in two soil water contents. *Croatian Journal of Forest Engineering: Journal for Theory and Application of Forestry Engineering*, 35(1): 73-80.
- Oves, M., Zaidi, A., Khan., S., Ahmad, M. 2009. Variation in plant growth promotes activities of phosphate-solubilizing microbes and factors affecting their colonization and solubilizing efficiency in different agroecosystems. Nova Science Publishers. 1-14.
- Padilla, A. 2003. Desarrollo sostenible de la Reserva Forestal de Imataca ¿Utopía o realidad? *Revista Forestal Latinoamericana*. 33: 5.
- Paillié, M. 2012. Determinación de la actividad celulolítica, ligninolítica y amilolítica de actinobacterias aisladas de suelo rizosférico de trébol blanco (*trifolium repens*). Pontificia universidad javeriana facultad de ciencias microbiología industrial Bogotá D. C.
- Paula, F., Rodrigues, J., Zhou, J., Wou, L., Muller, L., Mirza, B., Bohannam, B., Nüsslein, K., Deng, Y., James, M. Pellizaril, V. 2014. Land use change alters functional gene diversity, composition, and abundance in Amazon Forest soil microbial communities. Instituto Oceanográfico, Universidade de Sao Paulo. Brasil.
- Peix, A., Rivas, A., Mateos, P., Rodríguez, C., Martínez, E., Velázquez, E. 2001. Growth promotion of chickpea and barley by a phosphate solubilizing strain of *Mesorhizobium Mediterranean* under growth chamber conditions. *Soil Biology and Biochemistry*, 33: 103-110.
- Phillips, J. y Hayman, D. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *British Mycological Society Journal*, 55: 158-161.
- Ramos, J. 1996. Modelos matemáticos y estadísticos y la biodegradación de crudos. *Memorias del V Seminario Guayanés sobre Conservación del Ambiente*. Puerto Ordaz, Estado Bolívar, Venezuela. 25.
- Richardson, A., Barea, J., McNeill, A., Prigent, C. 2009. Acquisition of phosphorus and nitrogen in the rhizosphere and plant growth promotion by microorganisms. *Plant and Soil*, 321: 305–339.

- Robinson, S., Dafydd, E., Johnson, D., Both, S., Riutta, T., Goodall, T., Majalap, N., McNamara, N., Griffiths, R., Ostle, N. 2020. Soil fungal community characteristics and mycelial production across a disturbance gradient in lowland dipterocarp rainforest in Borneo. *Frontiers in Forests and Global Change*, 3-19.
- Rodríguez, V., Soto, A., Pérez, J., Negreros, P. 2011. Los hongos micorrízicos arbusculares y su implicación en la producción y manejo de especies neotropicales forestales, con énfasis en meliáceas. *Interciencia*, 36 :564-569.
- Shi, L., Dossa, G., Paudel, E., Zang, H., Xu, J., Harrison, R. 2019. Changes in fungal communities across a forest disturbance gradient. *Applied and Environmental Microbiology*. 1- 35.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhizae management in tropical agroecosystems. *Eschborn*, 271- 290.
- Usher, E. 2015. Evaluación del impacto del aprovechamiento forestal sobre la masa remanente en la unidad de manejo forestal Imataca V - unidad de producción Santa María I Reserva Forestal Imataca. Universidad de los Andes.
- Vieira, R., Marques F., Farias, L., Ferreira, S., Alves, G. 2012. Fungos micorrízicos arbusculares como indicadores da recuperação de áreas degradadas no Nordeste do Brasil. *Ciência Agronômica*, (43) 648-657.
- Villanova, E., Ramírez, H., Torres, A. 2010. El almacenamiento de carbono en la biomasa área como indicador del impacto del aprovechamiento de maderas en la Reserva Forestal Imataca, Venezuela. *Interciencia*. 35 (9): 659 - 661.
- Welc, M., Frossard, E., Egli, S., Bünemann, E., Jansa, J. 2014. Rhizosphere fungal assemblages and soil enzymatic activities in a 110-years alpine chronosequence. *Soil Biology and Biochemistry*, 74:21–30.
- Wertz, S., Degrange, V., Prosser, J. I., Poly, F., Commeaux, C., Guillaumaud, N., & Le Roux, X. 2007. The decline of soil microbial diversity does not influence the resistance and resilience of key soil microbial functional groups following a model disturbance. *Environmental Microbiology*, 9 (9), 2211–2219.
- Zamora, A., Malaver, N., Ramos, J. 2012. Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biologica Venezuelica*. 32(1):57-86.
- Zamora, A. y Malaver, N. 2019. Dinámica de comunidades microbianas heterotróficas en la planicie de inundación del río Mapire, Venezuela. *Acta Biologica Venezuelica*, 39(1):49-71.

Zangaro, W. Vergal, L., Bochi, P. De Almeida, R., Azevedo, L. Lírio, A. Nogueira, M. Carrenho, R. 2012. Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil. *Mycorrhiza*. 23:221–233.

Zapata, J., Zapata, D., Guadamarra, P., Carrillo, L., 2010. Hongos micorrízicos arbusculares. *Biodiversidad*. 170- 173.