



UNIVERSITAT DE VALÈNCIA, OCTUBRE 2018

TESIS DOCTORAL

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIODIVERSIDAD Y BIOLOGÍA EVOLUTIVA

Variaciones espacio-temporales en la composición y/o abundancia de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en táxones vegetales de interés para la reconstrucción dunar

Memoria presentada por ALBERTO GUILLÉN BAS para optar al título de  
DOCTOR EN BIOLOGÍA

LOS DIRECTORES

JUAN BAUTISTA PERIS GISBERT

ISABEL ARRILLAGA MATEOS

Esta tesis doctoral ha sido realizada en el Departamento de Biología Vegetal de la Universitat de València (UV), Valencia, y financiada mediante la beca predoctoral “ATRACCIÓ DE TALENT” (UV-INV\_PREDOC15-265696) de la UNIVERSITAT DE VALÈNCIA.

A mis padres, a mi hermano y a Carla

## AGRADECIMIENTOS

Me gustaría mostrar mi más profundo agradecimiento a todos los componentes del departamento de Biología Vegetal. Muy especialmente a Juan Segura, Ester Pérez, Jesús Muñoz, Roc Ros, Francisco Marco, Miguel Carlos Sánchez, Pedro Pérez-Bermúdez, María del Carmen Calvo, Manuel Talón, María Amparo Sanz, José Gabriel Segarra, María Cano, Armand Djoro Anoman, María Angeles Morcillo, Sara Rosa, Isabel Mendoza y María Flores. Tampoco querría olvidar a los edafólogos Jorge Batlle, Ester Carbó, Juan Sánchez y al fallecido Luis Recatalá. Mención especial tienen Estrella Arnalte y Carolina Cortell, pues hemos compartido espacio físico y psíquico en el laboratorio. Ellas saben que les guardo un profundo cariño y respeto. Por otro lado, me gustaría también resaltar mi afecto y agradecimiento por el personal de secretaría: María José Sanchís, María del Carmen Villamayor y la felizmente jubilada Consuelo Muñoz. Siempre me han tratado muy bien y aconsejado aún mejor. A todos vosotros, muchas gracias.

No podría faltar mi agradecimiento a todo el Depto. de Botánica y Geología y, muy especialmente a Gerardo Stübing, Ana María Ibars, Juan Alcober, María Felisa Puche, Antoni Aguilera, Gonzalo Mateo, María Violeta Atienza, Fernando Boisset, Ricardo Garilleti, Belén Albertos, Miguel Guara y Joan Pedrola. Todos ellos me han enriquecido con sus palabras y experiencia. Además, no puedo olvidar a los botánicos foráneos de la Universitat de València Emilio Laguna, Pedro Pablo Ferrer, Roberto Roselló y José Gómez. Grandes botánicos y compañeros. También me gustaría resaltar a los profesores del Depto. de Medicina Preventiva y Salud Pública Agustín Llopis y María Manuela García, quienes siempre me han acogido con una sonrisa y un consejo.

También me gustaría mostrar mi agradecimiento hacia el “Centre per a la Investigació i Experimentació Forestal (CIEF)” y muy especialmente a Inmaculada Ferrando y a Francisco Javier Albert así como a los ya mencionados P. P. Ferrer-Gallego y E. Laguna. Tampoco podría faltar mi agradecimiento hacia todos los componentes de la Oficina Técnica Devesa – Albufera (ODEVESA) así como del “Servei Central de Suport a la Investigació Experimental (SCIE)”, pues con su profesionalidad y competencia ayudan y propician la actividad investigadora se desarrolle.

Por otro lado, también quiero agradecer esta tesis al Depto. de Microbiología y Ecología y, muy especialmente, a Francesc Mesquita-Joanes, Javier Armengol, Antonio Camacho, José Antonio Gil-Delgado, Juan Salvador Monrós, Raquel Ortells, María Antonia Rodrigo, Carmen Rojo, Manuel Serra y a la tristemente fallecida Rosa Miracle. Muchos de ellos han sido profesores míos durante el grado y el máster y puedo decir, sin lugar a dudas, que sus clases así como las respuestas y aclaraciones que recibí por su parte inspiraron mi trayectoria.



También me gustaría agradecer esta tesis doctoral a los doctores Concepción Azcón, Dirk Redecker y Jeff Powell por haberme permitido realizar estancias en los centros de investigación Estación Experimental del Zaidín (EEZ, España), The International Bank of Glomeromycota (BEG, Francia) y Hawkesbury Institute for the Environment (HIE, Australia). En tales centros conocí a distintas gentes, siendo de destacar el técnico de laboratorio Eulogio Javier Palenzuela con quien trabajé y aprendí en la EEZ; Louis Raymond Gbonge, con quien compartí muy buenos momentos en el BEG así como a los técnicos Joël Michel y Nathalie Koszela quienes siempre me trataron de forma excepcional; Ximena Cibils, Jeff Chieppa y los Drs. Sebastian Horn y Uffe Nielsen con quienes estoy trabajando y disfrutando en este mes de Octubre del 2018 en el HIE. También de este mismo centro me gustaría mencionar a las Dras. Eleonora Egidi y Yolima Carrillo. Tampoco podría faltar mencionar al Dr. David Hall y a Jenny Harvey, quienes hacen que la burocracia del centro funcione de forma rápida y eficaz.

También agradeceré en este escrito a todos los profesores que han contribuido en mi formación académica (desde que tengo memoria hasta el doctorado), pues la educación son las manos moldeadoras del potencial humano.

Agradezco esta tesis doctoral a todos mis familiares y amigos, pues la vida sin momentos felices no es vida; sino más bien tiempo. Mencionaré a Andrés Jurado, quien siempre me ha sabido escuchar; a Martín Delgado, pues siempre se anda mejor en compañía; a José Manuel Bas, Javier Bas, Alejandro Bas, David Jorques y Juan Bautista Torres por los buenos momentos vividos al lado de una fogata, un sábado por la noche o un domingo jugando a las cartas.

También me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento a mis padres, María Pilar Bas y José Luis Guillén, quienes de su unión pude nacer; quienes por sus desvelos pude crecer; quienes con sus palabras pude soñar; y quienes con su ejemplo pude obrar. A vosotros, muchas gracias. Hubiese sido imposible tener mejores padres. Tampoco podría faltar mi hermano, Esteban Guillén, pues no tan solo estoy unido a él por la sangre, sino también por el respeto, la confianza y la amistad.

A Carla Gutiérrez Franco. Desde que te conocí nunca me has defraudado. Jamás he escuchado reproches, o quejas. Siempre han sido ánimos. Ánimos para seguir adelante. Ánimos cargados de amor. Un amor que se muestra día a día. Un amor que hace que brille el sol y hasta las noches sin luna. La vida con amor es vida. Por ello, gracias. Gracias a ti, a tus padres y hermano, pues con ellos he encontrado una segunda familia.

Finalmente, me gustaría agradecer esta tesis doctoral a mis directores, Isabel Arrillaga y Juan Bautista Peris. Ambos han contribuido enormemente en mi formación y los considero un ejemplo a seguir. Cuando alguien considera a otro como un ejemplo, nada mejor puede decirse.

Puesto que la memoria es limitada y el ingenio humano no puede reprimirse, por favor disculpen si a alguien he omitido pues a buen seguro será por olvido y nunca por malos sentimientos.

## Abstract

Successful arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) symbiosis in sand dunes is a key factor for the maintenance of stable vegetation. Therefore, the main goal of this work was to study the AMF species associated with sand dunes in the Gulf of Valencia (Spain), as well as the effects of environmental and temporal factors on these AMF communities. In order to achieve these, soil samples from the rhizosphere of four plant species were seasonally collected at 6 sites during 2 years in three habitats. Frequency and relative abundance of AMF among these samples were examined. Among the ten AMF species identified, only *Corymbioglomus corymbiforme* and *Diversispora aurantia* (Diversisporaceae) had been previously described. Populations of these species in these sandy ecosystems displayed higher morphological variability than those originally described having the same macro- and micro-structure of spores. Moreover, regarding the other eight species, *D. valentina* (Diversisporaceae), *Cetraspora sucrosa*, *Racocetra papillosa* and *R. sicanica* (Gigasporaceae) displayed a phylogenetically unknown position, although all were related to some species of their respective genus. In respect to *Scutellospora deformata* (Gigasporaceae), it was molecularly related with a strain of *Sc. calospora* (GenBank FJ461865.1), however, it was less related with the type material of this species (GenBank AJ510231.1). Consequently, we suggest that material of this strain (GenBank FJ461865.1) should be revised. On the other hand, *Funneliformis pillosus* (Glomeraceae) was related, morphological and molecularly, to *F. coronatus*. *Glomus ibericum* (Glomeraceae) was related morphological and molecularly with *G. aggregatum* and *G. macrocarpum*. Finally, *Septoglomus mediterraneum* (Glomeraceae) was molecularly related with *S. jasnowskae* and morphologically related to *S. turnauae*, *S. constrictum*, *S. furcatum* and *S. titan*. Furthermore, pure cultures of *F. pillosus*, *S. mediterraneum*, *Co. corymbiforme*, *D. aurantia* and *D. valentina* were obtained at the greenhouse. Overall, the distribution of all AMF species found was mainly correlated to the anthropogenic disturbance of the site. Meanwhile, Gigasporaceae *C. sucrosa* and *R. sicanica* preferred undisturbed soil; Diversisporaceae, Glomeraceae and the others Gigasporaceae identified were associated to recently restored sand dunes. Although all AMF species were found in all plant species analyzed, interestingly, *Co. corymbiforme* was mainly associated to *Echinophora spinosa*. Our results might contribute to improve Mediterranean sand dunes restoration.

---

|   |    |
|---|----|
| 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS.....  | 1  |
| 1.1. Los hongos micorrízicos.....   | 1  |
| 1.2. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA).....  | 6  |
| 1.2.1. Taxonomía.....   | 6  |
| 1.2.2. Características generales.....   | 11 |
| 1.2.3. Ciclo vital de los HMA.....  | 13 |
| 1.2.3.1. Fase asimbiótica.....  | 13 |
| 1.2.3.2. Fase presimbiótica.....  | 14 |
| 1.2.3.3. Fase simbiótica.....   | 14 |
| 1.2.4. Distribución de los HMA.....   | 16 |
| 1.3. Ecosistemas dunares marítimos y HMA.....   | 23 |
| 1.4. Objetivos.....   | 26 |
| 2. MATERIAL Y MÉTODOS.....  | 27 |
| 2.1. Localidades y hábitats de estudio.....   | 27 |
| 2.2. Identificación de especies vegetales.....  | 29 |
| 2.3. Muestreo.....  | 29 |
| 2.4. Análisis de suelo.....   | 30 |
| 2.4.1 pH, conductividad eléctrica (CE) y cantidad de raíces finas en el suelo.....                        | 30 |
| 2.4.2. Determinación de la composición del suelo.....   | 31 |
| 2.5. Extracción, identificación, descripción y cuantificación de esporas de HMA en muestras de campo..... | 31 |
| 2.6. Cultivos puros de HMA.....   | 31 |
| 2.6.1. Tinción de estructuras simbióticas de los HMA en cultivo puro.....                                 | 32 |
| 2.7. Obtención de imágenes de esporas, esporocarpos y estructuras simbióticas.....                        | 32 |

|  |    |
|--|----|
| 2.8. Identificación molecular.....   | 32 |
| 2.8.1. Extracción de DNA genómico.....   | 32 |
| 2.8.2. Amplificación por PCR anidada, visualización de ADN y purificación..... | 33 |
| 2.8.3. Clonación.....  | 35 |
| 2.8.3.1. Ligación.....   | 35 |
| 2.8.3.2. Transformación de células competentes.....                            | 36 |
| 2.8.4. Extracción del plásmido.....  | 37 |
| 2.8.5. Secuenciación.....  | 38 |
| 2.8.6. Filogenia.....  | 38 |
| 2.9. Variables climáticas.....   | 38 |
| 2.10. Variables de Paisaje.....  | 38 |
| 2.11. Estadística.....   | 39 |
| 3. RESULTADOS.....   | 41 |
| 3.1. Identificación y descripción de los HMA encontrados.....                  | 41 |
| 3.1.1. Morfotipo 1.....  | 42 |
| 3.1.2. Morfotipo 2.....  | 46 |
| 3.1.3. Morfotipo 3.....  | 50 |
| 3.1.4. Morfotipo 4.....  | 54 |
| 3.1.5. Morfotipo 5.....  | 58 |
| 3.1.6. Morfotipo 6.....  | 63 |
| 3.1.7. Morfotipo 7.....  | 67 |
| 3.1.8 Morfotipo 8.....   | 72 |
| 3.1.9 Morfotipo 9.....   | 76 |
| 3.1.10. Morfotipo 10.....  | 80 |
| 3.2. Caracterización del suelo, clima y paisaje de las zonas de estudio.....   | 85 |

|   |     |
|---|-----|
| 3.2.1. Suelo.....   | 85  |
| 3.2.2. Clima.....   | 86  |
| 3.2.3. Paisaje.....   | 87  |
| 3.2.4. Selección de variables climáticas y paisajísticas.....       | 90  |
| 3.2.5. Categorización de variables paisajísticas seleccionadas..... | 91  |
| 3.3. Frecuencia y abundancia relativa de esporas de HMA.....        | 91  |
| 3.4. Frecuencia y abundancia relativa de especies de HMA.....       | 96  |
| 4. DISCUSIÓN.....   | 102 |
| 5. CONCLUSIONS.....   | 114 |
| 6. BIBLIOGRAFÍA.....  | 116 |
| Anexo I.....  | 140 |
| A1. Análisis multielemental del suelo.....                          | 140 |
| Anexo II.....   | 142 |
| A2. Clima.....  | 142 |
| A2.1. Temperaturas.....   | 142 |
| A2.2. Precipitaciones.....  | 148 |
| A2.3. Viento.....   | 152 |
| Anexo III.....  | 154 |
| A3.1. Paisaje.....  | 154 |
| Anexo IV.....   | 163 |
| Material suplementario.....   | 169 |



## 1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

### 1.1. Los hongos micorrízicos

Los hongos formadores de micorrizas establecen asociaciones simbióticas, aunque no siempre mutualistas (Brundrett, 2004), con la inmensa mayoría de las plantas en casi todos los ecosistemas, desde desiertos a bosques tropicales e incluso en campos de cultivo (Smith y Read, 1997; Brundrett, 2009). Tal asociación se denomina micorriza (hongo-raíz; Frank, 1885) pudiendo ser balanceada (mutualista) o explotadora (no mutualista) (Brundrett, 2004). En la Fig. 1.1 se representan todas las asociaciones teóricas de los hongos con las plantas, mostrándose en los dos cuadrantes de la derecha el continuo correspondiente a las micorrizas balanceadas (planta y hongo se benefician; ++) y el de las micorrizas explotadoras (de forma extrema tan solo la planta se beneficia, -+). Según el grado de especialización, las plantas podrán requerir de forma facultativa u obligada tal asociación de micorriza balanceada (Fig. 1.1). Además, en determinadas ocasiones, los hongos formadores de micorrizas pueden actuar como endófitos de tejidos vegetales (representados en los otros dos cuadrantes de la Fig. 1.1) e incluso como antagonistas de las plantas. Ejemplo de ello es la colonización de raíces previamente colonizadas por otro tipo de micorrizas (Harley y Harley, 1987; Cázares y Trappe, 1993; Smith et al. 1998); la colonización de raíces de plantas no micorrízicas (Ocampo, 1986; Muthukumar et al. 1997; Giovannetti y Sbrana, 1998); la colonización de especies vegetales por parte de hongos formadores de micorrizas que normalmente no se asocian juntos (Molina y Trappe, 1982), etc. En todos estos casos, las estructuras típicas de intercambio de nutrientes Planta-Hongo no se forman y la micorrización es incompleta (Harrington y Mitchell, 2002; Brundrett, 2004). También hay constancia de que hongos formadores de micorrizas típicos pueden colonizar raíces de varias especies vegetales sin formar micorrizas (Bergero et al. 2000; Piercey et al. 2002). Todas estas asociaciones (endofitismo, antagonismo y mutualismo) pueden darse entre un mismo tipo de hongo formador de micorrizas y la planta huésped según en qué fase de la interacción nos encontremos (Brundrett, 2004). Por ejemplo, se conoce que los hongos formadores de micorrizas pueden sobrevivir como endófitos en raíces muertas hasta 10 años (Eason et al. 1991) así como tener una fase necrotrófica en raíces senescentes de algunos huéspedes (Nylund et al. 1982; Downes et al. 1992).



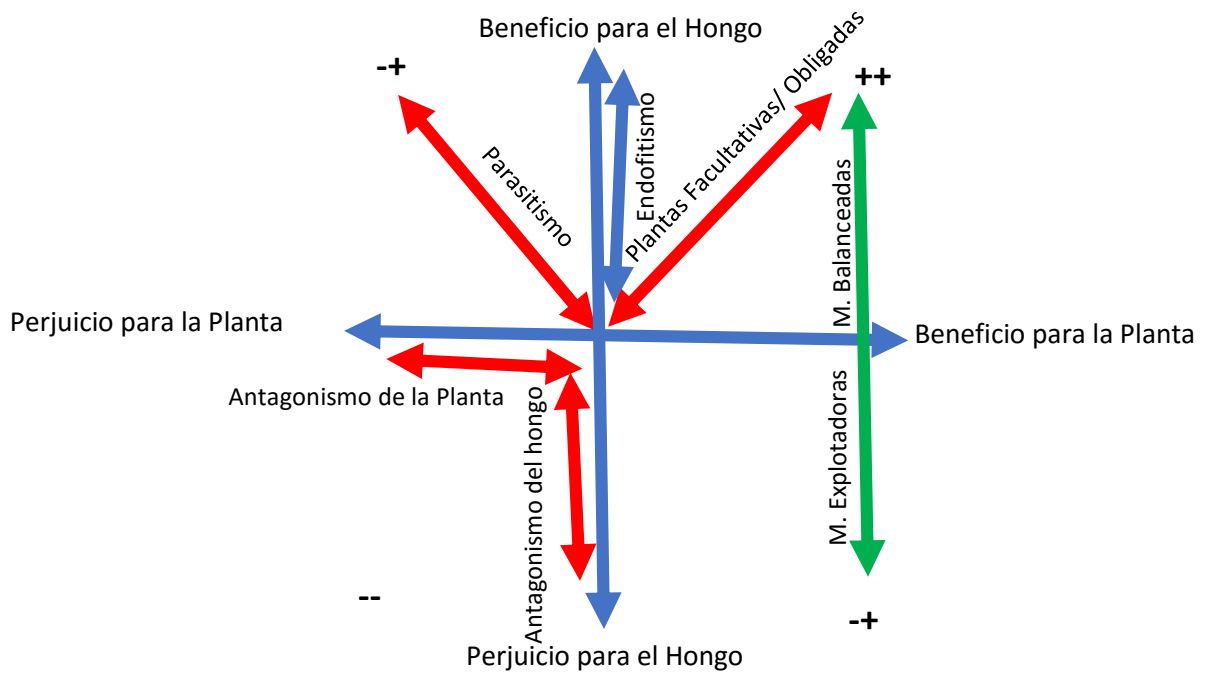


Figura 1.1. Diagrama de plano de fase que compara tipos de micorrizas y otras categorías de interacciones Planta-Hongo. M.: micorriza (modificado de Brundrett, 2004).

En base a su estructura y función se han descrito 4 grandes grupos de micorrizas (van der Heijden et al. 2015; Fig. 1.2 A-F). Las orquidoides, ericoides, ectomicorrizas (EM) y arbusculares (MA). A su vez, cada tipo de micorriza presenta distintas categorías (Brundrett, 2004; Tabla 1.1) atendiendo a cómo se relacione con la planta huésped.

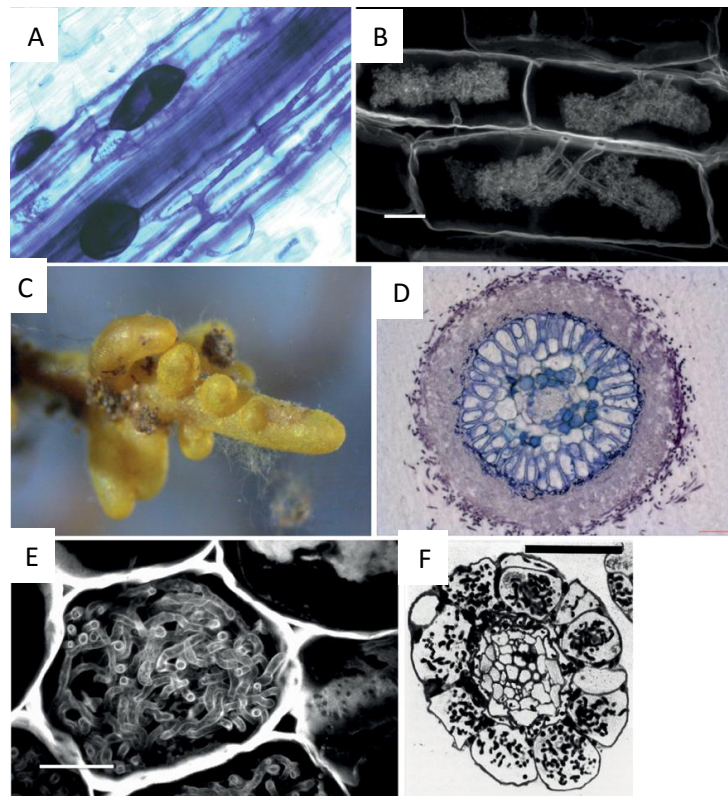


Figura 1.2. Micorrizas arbusculares en raíz donde se muestran las vesículas (A) y arbúsculos (B); Ectomicorrizas con el micelio recubriendo las raíces (C) y las hifas entre las células vegetales formando la red de Hartig (D); micorriza orquidoide donde se muestran los “pelotones” en el interior de una célula vegetal (E); y micorriza ericoide donde se muestra la colonización de la epidermis vegetal por parte del hongo (F) (van der Heijden et al. 2015).

| Tabla 1.1. Tipos, clases y descripción de micorrizas (modificado de Brundrett, 2004). |                    |  |
|---|--------------------|--|
| Tipo de micorriza   | Clase de micorriza | Descripción  |
| Orquidoide  |                    | Asociación de hifas donde las aglomeraciones de hifas (pelotones) penetran dentro de las células vegetales (orquídeas).                                    |
|   | Asociada a raíz    | Asociaciones dentro del córtex radical.  |
|   | Asociada a tallo   | Asociaciones dentro de un tallo o rizoma   |
|   | Explotadora        | Asociaciones con orquídeas micoheterotróficas.   |
| Ericoide  |                    | Bobinas de hifas dentro de raíces muy delgadas de plantas ericáceas.   |
| Ectomicorriza   |                    | Asociaciones de hongos superiores con plantas terrestres con cortas raíces laterales donde una red densa de hifas denominada manto encierra la raíz y otra |

|              |  |   |
|--------------|--|---|
|              |  | red de hifas laberínticas penetra entre las células radicales (red de Hartig).  |
|              | Cortical                               | Las hifas fúngicas de la red de Hartig colonizan múltiples capas celulares del córtex de raíces cortas (la mayoría de las asociaciones se establecen con gimnospermas). |
|              | Epidérmica                             | Las hifas fúngicas de la red de Hartig están confinadas a la capa de células epidérmicas de raíces cortas (ocurre en angiospermas).                                     |
|              | Célula de transferencia                | Red epidérmica de hifas de la red de Hartig con células de transferencia (células vegetales con crecimiento interno de las paredes celulares).                          |
|              | Monotropoide                           | Red de hifas exploradoras de plantas ericales micoheterotróficas, donde las hifas individuales penetran en las células epidérmicas.                                     |
|              | Arbutoide                              | Múltiples hifas de la red Hartig penetran en las células epidérmicas vegetales de ericáceas autótrofas.   |
| Arbuscular   |  | Asociación caracterizada por la formación de arbuscúlos en las raíces de la inmensa mayoría de las plantas.   |
|              | Lineal                                 | Asociaciones que se diseminan predominantemente a partir de hifas intercelulares longitudinales en raíces (también conocidas como tipo <i>Arum</i> ).                   |
|              | Enrollado                              | Asociaciones que se diseminan predominantemente a partir de hifas intracelulares dentro de las raíces (también conocidas como tipo <i>Paris</i> ).                      |
|              | A modo de cuentas de collar o "Beaded" | Hifas enrolladas en raíces con segmentos cortos divididos por constricciones.   |
|              | Corteza interna                        | Hifas enrolladas y arbuscúlos en una capa de células del córtex interno de la raíz.   |
|              | Explotadora                            | Hifas enrolladas en raíces de plantas micoheterotróficas, con o sin arbuscúlos.   |
| Subepidermal |  | Hifas en cavidades debajo de células epidérmicas de plantas monocotiledóneas del género <i>Thysanotus</i> .   |

Micorriza orquidoide: se diferencia de otros tipos de micorrizas por que en la asociación Hongo-Planta la planta presenta una fase heterótrofa en su ciclo vital, recibiendo compuestos carbonados del hongo (Smith, 1966). Éste penetra en las células de la raíz, invagina la membrana y forma ovillos dentro de la célula vegetal y agregados de hifas poco estructurados (conocidos como “pelotones”; Fig. 1.2 E). Cuando estos agregados degeneran liberan su contenido nutricional (Smith y Read, 2008). Los hongos que las forman son Basidiomycota R.T. Moore y, según algunas estimaciones, podría haber hasta 25000 especies implicadas (van der Heijden et al. 2015). Aproximadamente un 1% de las plantas forman micorrizas orquidoideas, principalmente orquídeas (Brundrett, 2009). A nivel nutricional las micorrizas orquidoideas son indispensables en la nutrición de las orquídeas (durante su fase heterótrofa o en aquellas heterótrofas estrictas) proporcionándole nutrientes y C que permitirán el desarrollo de la planta (Rasmussen, 1995; McKendrick et al. 2000).

Micorriza ericoide: se diferencia de otros tipos de micorrizas por que la rizodepidermis suele estar colonizada por hifas del hongo (Fig. 1.2 F). Los hongos que forman micorrizas ericoides son, fundamentalmente, Ascomycota Caval.-Sm. aunque también hay Basidiomycota y, según algunas estimaciones, podría haber >150 especies (Walker et al. 2011) aunque este número podría ser considerablemente mayor puesto que este grupo está poco estudiado (van der Heijden et al. 2015). Aproximadamente un 1% de las plantas forman micorrizas ericoides, principalmente ericáceas y algunos helechos (Brundrett, 2009; Read et al. 2000). A nivel nutricional las micorrizas ericoides son capaces de utilizar fuentes de C, P y N de origen orgánico e inorgánico, lo que favorece que las plantas que presentan este tipo de micorrizas puedan crecer en suelos con alto contenido en materia orgánica (Pearson y Read, 1975; St-John et al. 1985; Read, 1996).

Ectomicorriza (EM): se diferencia de otros tipos de micorrizas por que las hifas no penetran en el interior de las células vegetales, si no que se limitan a desarrollarse entre los espacios intercelulares, formando la denominada “red de Hartig” de manera que la superficie de la raíz queda cubierta por una red densa de hifas denominada “manto” (Fig. 1.2 C-D; Smith y Read, 1997). Los hongos que las forman son Basidiomycota y Ascomycota y, según algunas estimaciones, podría haber hasta 20000 especies implicadas (Rinaldi et al. 2008; Tedersoo et al. 2010; van der Heijden et al. 2015). Aproximadamente un 2% de las plantas, repartidas entre pináceas y angiospermas (principalmente arbustos y árboles de zonas templadas pertenecientes a mirtáceas, fabáceas, fagáceas y dipterocarpaceas) (Brundrett, 2009) e incluso algunas hepáticas (Read et al. 2000), presentan EMs. A nivel nutricional, las EMs pueden adquirir cantidades significativas de P y N, llegando a representar hasta hasta el 80% del P y N de la planta (Simard et al. 2002; Read y Pérez-Moreno, 2003; Hobbie y Hobbie, 2006).

Micorriza arbuscular (MA): se diferencia de otros tipos de micorrizas por la formación de grandes cantidades de hifas que van paralelas por la endodermis dentro del córtex de la raíz (Fig. 1.2 A). Además, las estructuras que les da su nombre son los denominados arbuscúlos (recuerdan a un árbol; Fig. 1.2 B), estructuras formadas en el interior de las células del córtex radical por la ramificación dicotómica de hifas (van der Heijden et al. 2015). Los hongos que las forman pertenecen al subphylum Glomeromycotina Spatafora & Stajich (Spatafora et al. 2016) y, con una sola excepción, al subphylum Mucoromycotina Benny (Orchard et al. 2016; Walker et al. 2018). Según algunas estimaciones podría haber hasta 1600 especies (Kivlin et al. 2011; Öpik et al. 2013; van der Heijden et al. 2015). Alrededor del 74% de las plantas presenta MA. Principalmente herbáceas, gramíneas y leñosas (Smith y Read, 2008; Brundrett, 2009) así como plantas no vasculares (Ligrone et al. 2007; Desiro et al. 2013). A nivel nutricional pueden llegar a ser responsables de hasta el 90% del P de la planta (Jakobsen et al. 1992; Leake et al. 2004; Smith y Smith, 2011). La contribución a la nutrición nitrogenada es menos pronunciada, a menudo despreciable y depende de otros factores edáficos tales como el contenido en agua, el pH y el tipo de suelo (Tobar et al. 1994; Mäder et al. 2000; Hodge y Storer, 2015).

Además de los tipos de micorrizas citados anteriormente en la Tabla 1.1 también se incluye la llamada micorriza “subepidermal” (McGee, 1988) aunque, hasta el momento, no se ha identificado el hongo que forma dicha asociación (Tedersoo, 2017).

En total, los hongos formadores de micorrizas representan entre 0.5-10% del total de los hongos del planeta (Blackwell, 2011; Taylor et al. 2014). La mayoría de estos hongos forman facultativamente micorrizas, pudiendo ser saprobios (ej.: muchos hongos formadores de micorrizas orquidoides); aunque los hongos del subphylum Glomeromycotina son, en su mayoría, simbioses estrictos de las plantas. Hasta la fecha, únicamente *Geosiphon pyriformis* (Kütz.) F. Wettst. no forma simbiosis con plantas aunque sí lo hace con cianobacterias (Schüßler, 2002).

## 1.2. Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA)

La presente memoria de tesis doctoral tiene como objeto de estudio las variaciones espacio-temporales de los Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) en dunas embrionarias y móviles de parte del mediterráneo ibérico atendiendo a sus esporas. Por ello, a partir de ahora, nos centraremos en los HMA.

### 1.2.1. Taxonomía

La identificación de los HMA se realiza fundamentalmente en base a la morfología de sus esporas (Gerdemann y Nicolson, 1963) debido, principalmente, a la variabilidad de su modo de formación, tamaño, forma, color, estructura, organización de las láminas, estructuras de germinación y forma de

emergencia de los tubos de germinación (Oehl et al. 2008). Todas estas características se utilizan para definir especies y realizar claves de identificación, especialmente las relacionadas con la esporogénesis y el modo de germinación (Gerdemann y Trappe, 1974; Tandy, 1975 ; Nicolson y Schenck, 1979 ; Hall y Fish, 1979 ; Walker y Trappe, 1981 ; Koske y Walker, 1985 ; McGee, 1986 ; Morton y Benny, 1990 ; Oehl y Sieverding, 2004 ; Oehl et al. 2006 , 2008).

En relación al modo de formación de las esporas, se han descrito 5 tipos: Acaulosporoide, Entrophosporoide, Gigasporoide, Glomoide y Radial-Glomoide (Walker, 1983; Schüßler y Walker, 2010). El morfotipo Acaulosporoide está definido por la formación de un sáculo lateral en la hifa portadora. El contenido de este sáculo es transferido a la espora durante la esporulación (Stürmer y Morton, 1999); el Entrophosporoide difiere del Acaulosporoide por que el sáculo forma parte de la espora (Wu et al. 1995; Kaonongbua et al. 2010); el Gigasporoide se caracteriza por que las esporas se forman en el ápice de una hifa bulbosa (célula suspensora); el Glomoide se caracteriza por que la espora se forma en la porción terminal o intermedia de la hifa reproductiva; y el Radial-Glomoide se caracteriza por formar y organizar las esporas a partir de un plexo central de hifas (Souza, 2015; Fig. 1.3).

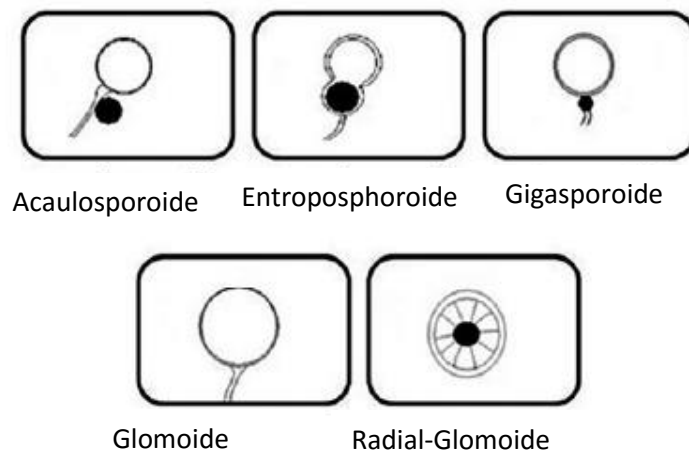


Figura 1.3. En los morfotipos Acaulosporoide y Entrophosporoide en negro se muestra las esporas; en el Gigasporoide en negro la célula esporógena; y en el Radial-Glomoide en negro se muestra el plexo central. En el Glomoide se muestra en blanco la espora junto con la hifa portadora (Souza, 2015).

Los HMA fueron clasificados inicialmente dentro del phylum Zygomycota Moreau, familia Endogonaceae Paol y género *Endogone* Link. En 1974 y en base al modo de formación de las esporas Gerdemann y Trappe (1974) propusieron 4 géneros dentro de la familia Endogonaceae: *Acaulospora* Gerd. & Trappe (esporas acaulosporoides), *Gigaspora* Gerd. & Trappe (esporas gigasporoides), *Glomus*

Tul. & C. Tul. (esporas glomoides) y *Sclerocystis* Berk. & Broome (esporas radial-glomoides). Dicha clasificación sirvió para la descripción de nuevas especies de HMA (Gerdemann y Trappe, 1974; Tandy, 1975) y, además, basándose en el modo de formación Entroposphoroide se erigió el género *Entroposphora* R.N. Ames & R.W. Schneid (Ames y Schneider, 1979). En el año 1979 la familia Endogonaceae contaba con 8 géneros: *Acaulospora*, *Endogone*, *Entroposphora*, *Gigaspora*, *Glaziella* Berk., *Glomus*, *Modicella* Kanouse y *Sclerocystis*.

Entre 1976-1983 el número de descripciones de nuevas especies de HMA se incrementó (66 nuevos táxones, Souza, 2015) y, con esto, ya no fue suficiente el criterio de Gerdemann y Trappe, (1974) para su clasificación (Walker, 1983). A partir de este momento la ultraestructura de las esporas se volvió preponderante, siendo Walker (1983) el primero en separar la estructura subcelular de las esporas en “paredes” (“walls”) y representarlas a modo de “murografías” con el fin de que otros autores pudiesen reconocerlas. De tal modo se inició una fase en la cual el papel de las “paredes” es dominante (Morton, 1986; Walker, 1986; Spain et al. 1989). En definitiva, Walker (1983, 1986) desarrolló el concepto de “spore wall group”, definiéndolo como: “una agregación de paredes que son adherentes o que permanecen juntas cuando una espora es aplastada”. Este concepto marcó una etapa importante en la taxonomía de los HMA en la que se erigió el género *Scutellospora* C. Walker & F.E. Sanders basándose, principalmente, en diferencias en el modo de germinación de las esporas. 17 especies fueron recombinadas de *Gigaspora* a *Scutellospora* (Walker y Sanders, 1986); además, Gibson et al. (1986) transfirieron el género *Glaziella* al phylum Ascomycota y se erigió la familia Glomeraceae Piroz & Dalpé (Piroz y Dalpé, 1989) que se compuso de dos géneros: *Glomus* y *Sclerocystis*. En 1990 se describió la ontogenia de los HMA y todas las especies del género *Sclerocystis*, excepto *S. coremioides* Berk. & Broome, se transfirieron al género *Glomus* (Almeida y Schenck, 1990). Además, como colofón, se erigió el orden Glomerales Morton & Benny y las familias Acaulosporaceae Morton & Benny y Gigasporaceae Morton & Benny (Morton y Benny, 1990). Este orden incluyó a todos los hongos que forman arbuscúlos de forma obligada con las plantas vasculares y fue dividido en 2 subórdenes: Gigasporineae Morton & Benny, el cual incluyó los géneros *Gigaspora* y *Scutellospora*; y Glomineae Morton & Benny, el cual incluyó los géneros *Acaulospora*, *Entroposphora*, *Glomus* y *Sclerocystis* (Morton y Benny, 1990). En definitiva, esta etapa fue de gran importancia para la sistemática de los HMA. En total, desde 1976-1990 se describieron más de 100 especies nuevas de HMA (Souza, 2015).

Pese a la gran utilidad del concepto “spore wall group” (Walker, 1983, 1986), una de las mayores debilidades de este concepto era que estas “paredes” carecían de correspondencia con algún proceso biológico, como por ejemplo el desarrollo de las esporas (Almeida y Schenck, 1990; Morton, 1993) y, sin esta conexión, las definiciones no eran útiles para una aproximación sistemática y filogenética (Morton, 1995). En consecuencia, Morton (1995) organizó las “paredes” definidas por Walker (1983)

en pared externa, compuesta por n “láminas” (lámina 1 (L1), lámina 2 (L2), etc.); pared interna o pared germinal, compuesta por n “láminas” (lámina 1 de germinación o interna (L1Gw1), lámina 2 de germinación o interna (L2Gw1), etc.) (Morton, 1995). Las “láminas” internas también pueden denominarse como lámina interna 1 de la pared interna (IWL1), lámina interna 2 de la interna (IWL2), etc. (Goto et al. 2011). En definitiva, hay 3 tipos de caracteres en las esporas de los HMA que son útiles para su clasificación basándonos en el concepto de Morton (1995) con algunas modificaciones por Spain et al. (2006) y Oehl et al. (2008). Caracteres primarios: pared primaria e interna, ambas compuestas por “láminas” (Morton, 1995) y los diferentes tipos de estructuras pre-germinativas (escudo de germinación, hifa portadora, etc) (Souza, 2015); caracteres secundarios: son las “paredes” (Walker, 1983), redefinidas como “láminas” (Morton, 1995), que componen la pared externa e interna; y caracteres terciarios: modo de formación de las esporas, forma, color, reacción al Reactivo de Melzer, tamaño de las esporas, etc. (Souza, 2015).

Es a partir de la clasificación de Morton y Benny (1990) así como de la reorganización de las “paredes” (Walker, 1983, 1986) en paredes compuestas por “láminas” (Morton, 1995), cuando se incorporan las técnicas de biología molecular a la descripción y sistemática de los HMA debido a la dificultad de diferenciar muchas de las especies descritas tan solo con marcadores morfológicos (tamaño de las láminas, forma, color de las esporas, etc.). En 1992 se obtuvo la primera secuencia de los genes nucleares que codifican la subunidad pequeña (SSU) del ARNr y se creó el primer conjunto de cebadores (Simon et al. 1992) para la identificación de los HMA. Estudios posteriores mostraron que estos cebadores tan solo podían discernir un grupo limitado de HMA (Clapp et al. 1995, 1999; Helgason et al. 1999) y empezaron a desarrollarse nuevos conjuntos de cebadores que amplificasen no solo genes nucleares que codificasen la subunidad pequeña del ARNr sino otros genes nucleares que codificasen las regiones ITS (Espaciador interno transcrito), la subunidad 5.8S y parte de la subunidad grande del ARNr (LSU) (Kjøller y Rosendahl, 2000; Redecker, 2000; Turnau et al. 2001; Wubet et al. 2003, 2006; Gamper y Leuchtmann, 2007; Lee et al. 2008; Krüger et al. 2009). Aunque se han utilizado otros marcadores moleculares como los genes de la  $\alpha$  tubulina (Corradi et al. 2004) para la identificación de los HMA, los más ampliamente utilizados son los que permiten amplificar la región SSU-ITS-5.8S-LSU descritos por Krüger et al. 2009 y que, hasta el momento, permiten diferenciar a nivel de especie todos los HMA descritos. Los ITS son regiones más variables que las anteriores y pueden jugar un papel importante en la identificación de especies dentro de un mismo género e incluso cepas dentro de una misma especie (Stockinger et al. 2010).

En el año 2001, los HMA se separan del phylum Zygomycota basándose en la secuencia de los genes nucleares que codifican la subunidad pequeña (SSU) del ARNr así como en la naturaleza asexual de sus esporas y se erige el phylum Glomeromycota C. Walker & A. Schüßler. Al mismo tiempo, los



miembros del recién phylum se reorganizan en 4 órdenes: Paraglomerales C. Walker & A. Schüßler, Archaeosporales C. Walker & A. Schüßler, Diversisporales C. Walker & A. Schüßler y Glomerales (Schüßler et al. 2001). Dentro de los órdenes Paraglomerales y Archaeosporales se ubicaron las recientemente creadas familias Paraglomeraceae Morton & Redecker y Archaeosporaceae Morton & Redecker (Morton y Redecker, 2001), respectivamente, mientras que las otras familias, entre ellas Diversisporaceae C. Walker & A. Schüßler (Schüßler et al. 2001), se repartieron en los otros órdenes.

Desde 2001 se han descrito, apoyadas con datos moleculares (SSU, ITS o LSU), numerosas especies de HMA y, además, se han incorporado grandes cambios en su sistemática. En el año 2010 había 234 especies de HMA reconocidas (Schüßler y Walker, 2010) mientras que en Mayo del 2018 había descritas más de 300 (<http://www.amf-phylogeny.com>). Del mismo modo, en tan solo 3 años hubo tres clasificaciones del phylum (Oehl et al. 2011; Krüger et al. 2012; Redecker et al. 2013). Tan solo para mostrar el nivel de confusión creado en esta época se mencionará la creación de 3 familias y 1 orden por parte de Oehl et al. (2008, 2011) que, posteriormente, Redecker et al. 2013 invalidaron. Además, recientemente los HMA han cambiado de estatus: pertenecen a la subdivisión Glomeromycotina (Spatafora et al. 2016) dentro del phylum Mucoromycota Doweld. Esta clasificación (Spatafora et al. 2016) está basada en un análisis filogenético utilizando 46 genomas de distintos grupos fúngicos y, como representante de los HMA se tomó a *Rhizophagus irregularis*. No obstante, algunas autoridades no reconocen esta clasificación (Walker et al. 2018). Además, actualmente siguen incorporándose importantes novedades sistemáticas (ej.: familia Pervetustaceae Błaszk., Chwat, Kozłowska, Symanczik & Al-Yahya'ei; o género *Desertispora* Błaszk., Kozłowska, Ryszka, Al-Yahya'ei & Symanczik; Błaszkowski et al. 2017). También llama la atención la reciente clasificación de *Glomus tenue* (Greenall) I.R. Hall en el subphylum Mucoromycotina como tipo nomenclatural del género *Planticonsortium* C. Walker & D. Redecker (Walker et al. 2018) en base a los análisis filogenéticos de secuencias de los genes nucleares que codifican la subunidad pequeña (SSU) del ARNr (Orchard et al. 2016).

En definitiva, esta última etapa se ha caracterizado por una gran inestabilidad y muestra el hecho de que hay un amplio campo de estudio tanto para la descripción de nuevas especies como para la sistemática de los HMA. En la Tabla 1.2. se muestra la clasificación de HMA más ampliamente consensuada en Mayo del 2018.

Tabla 1.2. Clasificación de los HMA en Mayo del 2018 ([www.amf-phylogeny.com](http://www.amf-phylogeny.com)).

| Phylum Glomeromycota   |                      |                        |                          |                                   |                                 |                            |
|------------------------|----------------------|------------------------|--------------------------|-----------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Clase Glomeromycetes   |                      |                        |                          |                                   |                                 |                            |
| Órdenes (4)            | Familias (12)        | Géneros (34)           | Tipos de Género          | Basión del Tipo                   |                                 |                            |
| Glomerales             | Claroideoglomeraceae | <i>Claroideoglomus</i> | <i>C. claroideum</i>     | <i>Glomus claroideum</i>          |                                 |                            |
|                        | Glomeraceae          | <i>Dominikia</i>       | <i>D. minuta</i>         | <i>Glomus minutum</i>             |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Funneliformis</i>   | <i>F. mosseae</i>        | <i>Endogone mosseae</i>           |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Glomus</i>          | <i>G. macrocarpum</i>    | <i>Glomus macrocarpum</i>         |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Kamienskia</i>      | <i>K. bistrata</i>       | <i>Glomus bistratum</i>           |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Oehlia</i>          | <i>O. diaphana</i>       | <i>Glomus diaphanus</i>           |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Rhizophagus</i>     | <i>R. populinus</i>      | <i>Rhizophagus populinus</i>      |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Sclerocystis</i>    | <i>S. coremioides</i>    | <i>Sclerocystis coremioides</i>   |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Septoglomus</i>     | <i>S. constrictum</i>    | <i>Glomus constrictum</i>         |                                 |                            |
| Diversisporales        | Acaulosporaceae      | <i>Acaulospora</i>     | <i>A. laevis</i>         | <i>Acaulospora laevis</i>         |                                 |                            |
|                        | Diversisporaceae     | <i>Corymbiglomus</i>   | <i>C. corymbiforme</i>   | <i>Corymbiglomus corymbiforme</i> |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Desertispora</i>    | <i>D. omaniana</i>       | <i>Diversispora omaniana</i>      |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Diversispora</i>    | <i>D. spurca</i>         | <i>Glomus spurcum</i>             |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Otospora*</i>       | <i>O. bareai</i>         | <i>Otospora bareai</i>            |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Redeckera</i>       | <i>R. megalospora</i>    | <i>Glomus megalosporum</i>        |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Tricispora*</i>     | <i>T. nevadensis</i>     | <i>Entrophospora nevadensis</i>   |                                 |                            |
|                        |                      | Gigasporaceae          | <i>Bulbospora*</i>       | <i>B. minima</i>                  | <i>Bulbospora minima</i>        |                            |
|                        |                      |                        | <i>Cetraspora</i>        | <i>C. gilmorei</i>                | <i>Gigaspora gilmorei</i>       |                            |
|                        |                      |                        | <i>Dentiscutata</i>      | <i>D. nigra</i>                   | <i>Gigaspora nigra</i>          |                            |
|                        |                      |                        | <i>Gigaspora</i>         | <i>G. gigantea</i>                | <i>Endogone gigantea</i>        |                            |
|                        |                      |                        | <i>Intraornatospora*</i> | <i>I. intraornata</i>             | <i>Racocetra intraornata</i>    |                            |
|                        |                      |                        | <i>Paradentiscutata*</i> | <i>P. bahiana</i>                 | <i>Paradentiscutata bahiana</i> |                            |
|                        |                      |                        | <i>Racocetra</i>         | <i>R. coralloidea</i>             | <i>Gigaspora coralloidea</i>    |                            |
|                        |                      |                        | <i>Scutellospora</i>     | <i>S. calospora</i>               | <i>Endogone calospora</i>       |                            |
|                        |                      | Pacisporaceae          | <i>Pacispora</i>         | <i>P. scintillans</i>             | <i>Glomus scintillans</i>       |                            |
|                        |                      | Sacculosporaceae       | <i>Sacculospora</i>      | <i>S. baltica</i>                 | <i>Entrophospora baltica</i>    |                            |
|                        |                      | Archaeosporales        | Ambisporaceae            | <i>Ambispora</i>                  | <i>A. fennica</i>               | <i>Ambispora fennica</i>   |
|                        |                      |                        | Archaeosporaceae         | <i>Archaeospora</i>               | <i>A. trappei</i>               | <i>Acaulospora trappei</i> |
| <i>Palaeospora*</i>    | <i>P. spainiae</i>   |                        |                          | <i>Palaeospora spainiae</i>       |                                 |                            |
| Paraglomerales         | Geosiphonaceae       | <i>Geosiphon</i>       | <i>G. pyriformis</i>     | <i>Geosiphon pyriformis</i>       |                                 |                            |
|                        | Paraglomeraceae      | <i>Innospora</i>       | <i>I. majewskii</i>      | <i>Paraglomus majewskii</i>       |                                 |                            |
|                        |                      | <i>Paraglomus</i>      | <i>P. occultum</i>       | <i>Paraglomus occultum</i>        |                                 |                            |
|                        | Pervetustaceae       | <i>Pervetustus</i>     | <i>P. simplex</i>        | <i>Pervetustus simplex</i>        |                                 |                            |
| Afiliación desconocida | incertae sedis       | <i>Entrophospora</i>   | <i>E. infrequens</i>     | <i>Glomus infrequens</i>          |                                 |                            |

\*Géneros sin suficiente evidencia aunque no se han emprendido acciones formales para enmendarlos.

### 1.2.2. Características generales de los HMA

Los HMA (no incluimos a *G. pyriformis*) son organismos que pueden encontrarse en la mayor parte los ecosistemas terrestres (Allen, 1991; Redecker et al. 2000) y que han establecido una simbiosis estricta (biotrofia obligada) con la inmensa mayoría de las plantas (Brundrett, 2009), incluso con algunas que presentan sus raíces permanentemente sumergidas (Sudová et al. 2015). Tal

simbiosis se estableció hace más de 460 m.a. (Redecker et al. 2000; Strullu-Derrien et al. 2014), considerándose ancestral y fundamental en la transición de las plantas del agua a la tierra (Selosse y Le Tacon, 1998). La simbiosis Planta-HMA mejora la obtención de nutrientes minerales por parte de la planta (Cantrell y Linderman, 2001), principalmente P (Jakobsen et al. 1992; Leake et al. 2004; Smith y Smith, 2011). Así mismo, aumenta la resistencia de la planta frente al estrés biótico (patógenos) o abiótico (sequía y metales pesados) (Newsham et al. 1995; Augé, 2000; Ferrol et al. 2016). Además, se ha descrito que un aumento en la diversidad de HMA está vinculado a un aumento en la diversidad vegetal, variabilidad ecosistémica y productividad (van der Heijden et al. 1998; Hartnett y Wilson, 1999). En definitiva, la importancia ecológica del mutualismo simbiótico Planta-HMA pone de relieve su papel fundamental en la biosfera.

En cuanto a la reproducción de los HMA, hasta el momento no se les conoce reproducción sexual, aunque sí hay evidencias de que albergan un conjunto convencional de genes relacionados con la meiosis (Halary et al. 2011; Tang et al. 2016). Además, se ha encontrado en *Rhizophagus irregularis* (Błaszk., Wubet, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler cepas heterocarióticas (Corradi y Brachmann, 2016) que han podido originarse por anastomosis de hifas de micelios distintos (Giovannetti et al. 2001; Gandolfi et al. 2003; Pawlowska y Taylor 2004; Croll et al. 2008). Esta situación recuerda a lo que ocurre en los hongos dicarióticos (Basidiomycota y Ascomycota) donde, durante un tiempo, pueden convivir núcleos divergentes antes de producirse la cariogamia (Raudaskoski y Kothe, 2010). También hay evidencias de la presencia de polimorfismos a nivel del ADN ribosómico en una misma espora (Clapp et al. 2001). Por todo ello, la visión de que estos hongos son asexuales empieza a cambiar, esperando evidencias más rotundas que apoyen la reproducción sexual (Corradi y Brachmann, 2016). Respecto al número de núcleos que una espora de HMA de la misma especie puede albergar hay pruebas de que los núcleos de las esporas se producen por migración desde el micelio así como por mitosis en la propia espora; por lo tanto, puede variar según la edad de la espora dentro de una misma especie (Marleau et al. 2011). El contenido de ADN de las esporas puede variar desde 15.7 Mb en *R. irregulare* (DAOM197198) a 1058.4 Mb en *Racocetra gregaria* (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. Souza & Sieverd. (Hijri y Sanders, 2004). Este genoma consta tanto de secuencias de copia única como repetidas, ocupando éstas últimas alrededor del 1.6% en *R. irregulare* (Hijri y Sanders, 2004). Finalmente, el genoma de estos hongos presenta en torno al 30-35% de su contenido en GC y casi el 25% de su cisteína está metilada (Hosny et al. 1997) mientras que en otros hongos como el ascomiceto *Neurospora crassa* Shear & B.O. Dodge tan solo el 1-2% de la cisteína está metilada (Russell et al. 1987).

### 1.2.3. Ciclo vital de los HMA

El ciclo vital de los HMA se puede dividir en tres fases denominadas asimbiótica, presimbiótica y simbiótica (Bonfante y Genre, 2010; Souza, 2015) que se exponen en la Fig. 1.4.

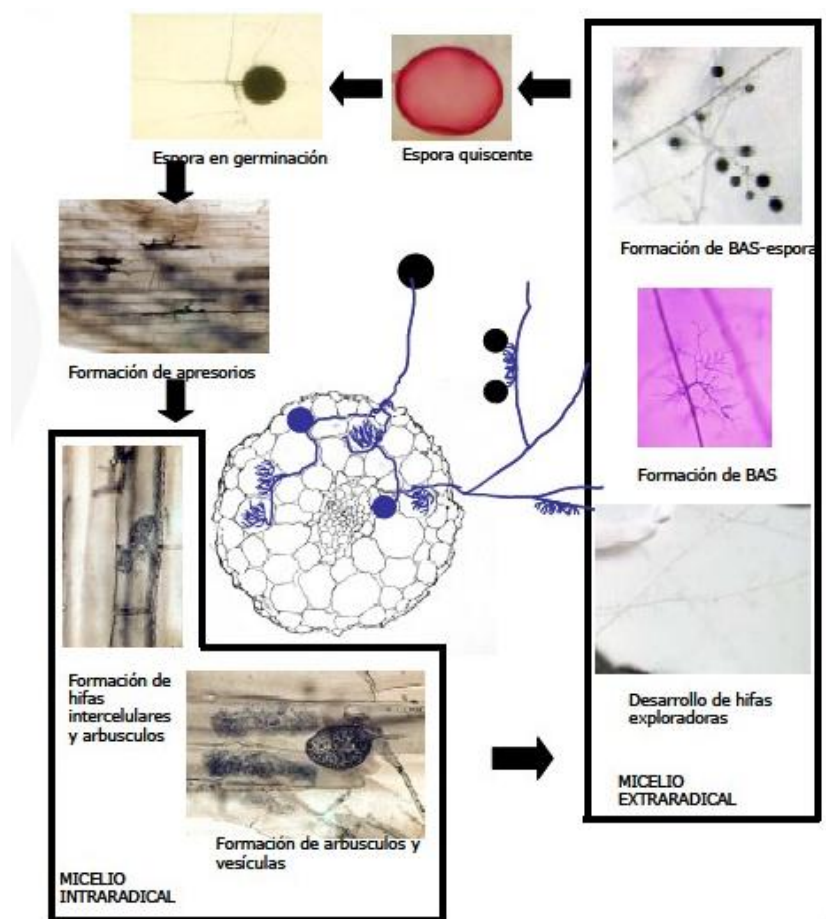


Figura 1.4. Ciclo vital de *Rhizophagus irregularis*. BAS: “Branched Absorbend Structures” (González, 2015).

#### 1.2.3.1. Fase asimbiótica

En esta fase la espora es capaz de germinar sin necesidad de la planta huésped (Mosse, 1956, 1959; Siqueira, 1983; Fig. 1.4). De hecho, la germinación de esporas de HMA depende única y exclusivamente de factores bióticos y abióticos como niveles de humedad, temperatura, pH, nutrientes minerales, materia orgánica, microorganismos del suelo, la acción de gases como el CO<sub>2</sub> o la presencia de exudados vegetales e incluso contaminantes como el antraceno (Bécard y Piché, 1989; Bartolome-Estebán y Schenck, 1994; Juge et al. 2002; Bonfante 2003; Tamasloukht et al. 2003; Bécard et al. 2004; Bianciotto et al. 2004; Dalpé et al. 2005 ; Bais et al. 2006; Besserer et al. 2006; Lambais 2006; Verdin et al. 2006; Ramos et al. 2008a,b,c). Antes de que estos factores sean favorables y

provoquen la germinación de la espora, decimos que ésta es quiescente (Souza, 2015; Fig. 1.4). Una vez la espora deja de ser quiescente capta agua y nutrientes del suelo, aumenta su volumen e incrementa la síntesis de RNA, proteínas, aminoácidos, carbohidratos, ácidos orgánicos y polisacáridos (Siqueira et al. 1985a,b, Spain et al. 2006). El citoplasma y los metabolitos producidos empiezan a acumularse en la zona donde se originará el tubo germinativo (Bécard et al. 2004). La emergencia del tubo germinativo se producirá por una fuerte presión entre las paredes de la espora y el tubo germinal en sí (Tommerup y Kidby, 1980; Oehl y Sieverding, 2004). A partir del tubo germinal se desarrollará inicialmente el micelio asimbiótico, el cual presenta un crecimiento limitado (Dalpé et al. 2005; Fig. 1.4). Este micelio está compuesto por citoplasma, núcleos y vacuolas que almacenan gran cantidad de polifosfatos (Bécard et al. 2004). La formación del tubo germinativo requiere la presencia de lípidos, glucosa y fructosa (Kuga et al. 2008). Además, según Trépanier et al. (2005), los HMA sólo son capaces de producir los lípidos durante su fase simbiótica, por tanto, si este micelio no es capaz de encontrar raíces de una o más plantas huéspedes antes de que se le acaben las reservas lipídicas no podrá completar su ciclo vital (Oehl et al. 2008; Gamper et al. 2009).

#### 1.2.3.2. Fase presimbiótica

Esta fase comienza con el contacto de la raíz de una planta hospedadora con el micelio asimbiótico de los HMA (Siqueira et al. 1985a,b; Lambais, 2006; Kiriacheck et al. 2009). La planta huésped produce “factores de ramificación” (FR) que son, básicamente, flavonoides, CO<sub>2</sub> y 5-desoxiestrigo (Buee et al. 2000; Besserer et al. 2006; Zsögön et al. 2008) los cuales promoverán un quimiotropismo del micelio hacia las raíces que producen tales FR (Fig. 1.5). Adicionalmente, las concentraciones elevadas de estrigolactonas en la rizosfera (5-desoxiestrigo, por ejemplo) activan el catabolismo de lípidos y la síntesis de proteínas de los HMA (Akiyama et al. 2005) así como la actividad mitocondrial (Besserer et al. 2006; Ramos et al. 2008a,b,c). Tales exudados provocan una subida de Ca<sup>+2</sup> en el citoplasma de las células radicales (Fig. 1.5), desencadenando la activación del conjunto de genes involucrados en el establecimiento temprano de la simbiosis (ruta SYM) (Kosuta et al. 2003). El estímulo de los FR y la respuesta del micelio de los HMA dará lugar al contacto entre el micelio asimbiótico y la raíz. Entonces las células de los HMA comenzarán a producir lipo-quitooligosacáridos (LCO), los cuales inducirán el comienzo de la fase simbiótica (Maillet et al. 2011)

#### 1.2.3.3. Fase simbiótica

Esta fase comienza cuando el micelio empieza a crecer a lo largo de la superficie de la raíz (Ramos et al. 2009a,b). En este momento las células del hongo comienzan a diferenciarse en apresorios (Lanfranco et al. 2005) y en las células vegetales se produce una agregación del citoplasma, formándose el denominado “aparato de prepenetración” (PPT, siglas en inglés) (Genre et al. 2005).

Después los apresorios se diferencian en hifas intra y extraradicales (Cruz et al. 2008). Las hifas intraradicales cruzan la hipodermis y empiezan a ramificarse en el córtex externo mientras que las hifas extraradicales empiezan a crecer más allá de la raíz de la planta (Kiriacheck et al. 2009). La formación de los arbuscúlos a partir de las hifas intraradicales implica cambios profundos en la célula vegetal en la cual cambia de posición su núcleo (pasa a una posición central) y su heterocromaticidad es menor (indicando mayor tasa transcripcional y metabólica). También se observa una fragmentación de la vacuola (Gianinazi-Pearson et al. 1981; Matsubara et al. 1999) (Fig. 1.5). Al mismo tiempo, el hongo sufre cambios en su estructura, progresivamente se va adelgazando la pared celular a medida que se van formando las ramificaciones más finas pasando de 500 nm de grosor a 50 nm en los ápices de los arbuscúlos (Bonfante, 1984) y en la membrana periarbuscular se localizan transportadores de fosfato específicos de la simbiosis (Rausch et al. 2001) y una mayor actividad H<sup>+</sup>-ATPasa (Gianinazzi-Pearson et al. 1991). Todo esto sugiere que son los arbuscúlos los encargados del intercambio de nutrientes Hongo-Planta, siendo su vida media no superior a 10 días (Alexander et al. 1988; Alexander et al. 1989). Por otro lado, en cuanto al micelio extraradical, primeramente se forman hifas gruesas (hifas exploradoras) que posteriormente producirán sucesivas ramificaciones secundarias (Declerk et al. 1996; Bago et al. 1998b; Pawlowska et al. 1999; Souza y Berbara, 1999; Karandashow et al. 2000; Tiwari y Adholeya, 2002). Es en estas hifas donde se produce una disminución progresiva del grosor de la pared hacia el ápice así como un aumento en el número de mitocondrias en su base. Todo esto facilitaría la absorción de nutrientes así como una mayor disponibilidad de energía para su transporte (Bago et al. 1998a). Estas modificaciones en el ápice de las hifas se denominan BAS (Branched Absorbend Structures) (Souza y Declerk, 2003). Finalmente, a partir del micelio (intra o extraradical) se forman las esporas, agregados o esporocarpos y se completa el ciclo vital (González, 2015).

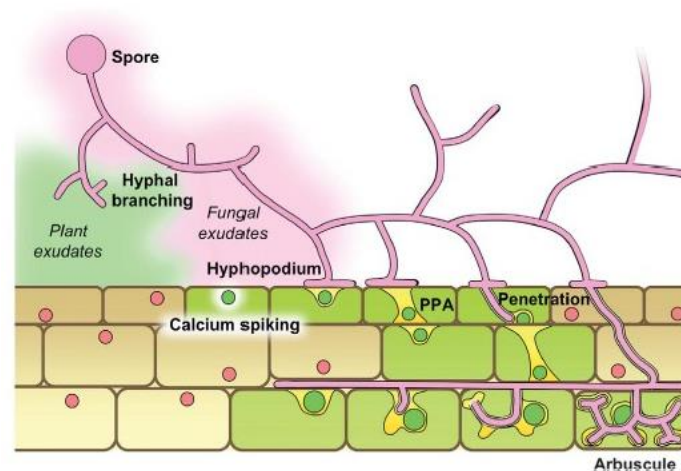


Figura 1.5. Resumen esquemático del proceso de colonización de la raíz por parte de los HMA. PPA: "Prepenetration Apparatus" (Bonfante y Genre, 2010).

#### 1.2.4. Distribución de los HMA

La distribución de los HMA se rige por factores bióticos, abióticos y sus propiedades intrínsecas. Los factores abióticos mayormente implicados son el clima, las características edáficas, la latitud, la separación espacial y las perturbaciones; los bióticos contemplan la comunidad de la planta huésped, las interacciones inter e intraespecíficas y las interacciones bióticas. Las propiedades intrínsecas de los HMA son la capacidad de dispersión, especiación y extinción y sus posibles interacciones (Chaudhary et al. 2008). Todos estos factores por separado así como su interacción configuran la distribución de los HMA (Fig. 1.6).

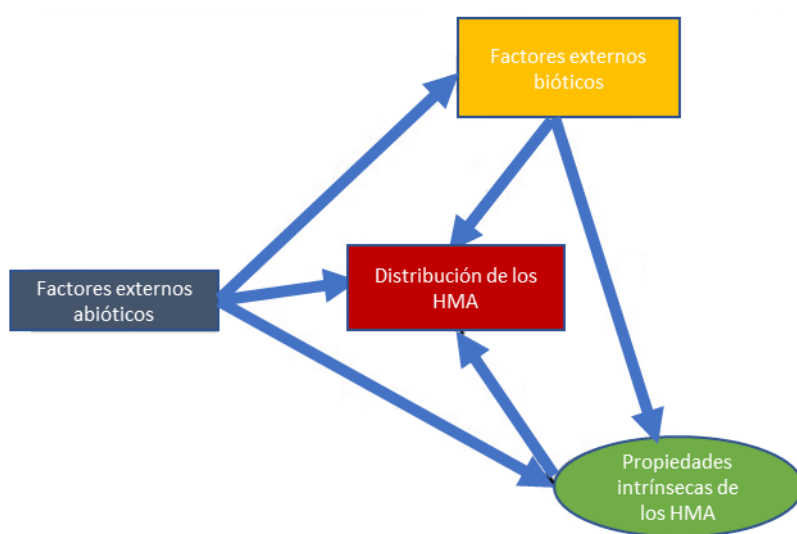


Figura 1.6. Factores externos bióticos y abióticos así como propiedades intrínsecas de los HMA que condicionan su distribución. En flechas se muestran las relaciones causales teóricas entre dichos factores y la distribución de los HMA (modificado de Chaudhary et al. 2008).

El clima puede definirse atendiendo a las precipitaciones y la temperatura que afectan a la humedad del suelo, evapotranspiración y a la productividad de las plantas, pudiendo tener todo esto consecuencias en la comunidad de esporas de HMA a nivel de composición o abundancia (Brown y Bledsoe, 1996; Miller y Bever, 1999; Johnson et al. 2003; Lovelock et al. 2003). Por otro lado, el régimen de temperatura también puede afectar a la esporulación de los HMA (Redman y Johnson, no publicada pero citado en Chaudhary et al. 2008) aunque no necesariamente debe afectar a la temperatura del suelo (Bunn y Zabininski, 2003) por lo que su efecto podría ser menor del esperado. Aún así, hay evidencias de que determinadas especies de HMA, como *Gigaspora gigantea* (T.H. Nicolson & Gerd.) Gerd. & Trappe o *Acaulospora colossica* P.A. Schultz, Bever & J.B. Morton prefieren

distintas estaciones (fría y templada, respectivamente) para esporular (Pringle y Bever, 2002). En cuanto a las características edáficas, el pH, textura o los niveles de nutrientes, entre otros, son factores importantes que caracterizan los suelos y pueden ser importantes en la distribución de los HMA. En relación al pH hay evidencias a favor y en contra de que los HMA presentan tolerancia a un amplio rango de pH (Abbott y Robson, 1991; Abbott y Robson, 1985, respectivamente). La textura óptima del suelo también es importante para algunas especies; el género *Gigaspora* prefiere suelos arenosos mientras que, por ejemplo, *Entrophospora infrequens* (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid. prefiere margas arenosas (Johnson et al. 1992).

Es bien sabido que el contenido de P y N del suelo afectan a la distribución de los HMA. Por ejemplo, en experimentos con parcelas pobres en P fertilizadas con N se observó un aumento en especies de la familia Gigasporaceae mientras que cuando se fertilizaban parcelas con N ricas en P se observó una disminución de especies de esta familia (Egerton-Warburton et al. 2007). Esto indica que variaciones naturales o antrópicas en la concentración de nutrientes del suelo pueden influir en la distribución de los HMA.

Diferentes estudios han relacionado la dominancia de diferentes familias de HMA con su latitud. Así, un trabajo clásico realizado en un transecto de 355 Km a través de la costa de EEUU demostró que especies de la familia Gigasporaceae dominan en latitudes sur (Koske, 1987) mientras que especies de la familia Glomeraceae, Gigasporaceae y Acaulosporaceae se encuentran preferentemente en los trópicos. Otras Gigasporaceae son menos abundantes en el norte de Europa y más en el sur (Gianinazzi-Pearson y Diem, 1982; Walker, 1992; Herrera-Peraza et al. 2001). Sin embargo, pese a estas observaciones, todavía no está claro si estos resultados son fruto de la latitud o de otras interacciones (especificidad con la planta huésped, tipo de suelo, etc) (Chaudhary et al. 2008). Además, existe la idea generalizada, basada en datos morfológicos y moleculares (Morton y Bentinga, 1994; Davison et al. 2015) de que la tasa de endemismo de los HMA es baja, lo que contrasta con la distribución de los otros grupos fúngicos que sí muestran una elevada tasa de endemismo (Meiser et al. 2014; Talbot et al. 2014). Cabe destacar que en numerosas ocasiones se ha puesto en evidencia la incorrecta identificación de un táxon, como por ejemplo *Glomus macrocarpum* Tul. & C. Tul. (Berch y Fortin, 1983), cuya distribución es, aún actualmente, considerada como cosmopolita (Błaszowski, 2012). También las evidencias moleculares están en discusión ya que la región SSU no es un marcador adecuado, por sí solo, para la identificación de los HMA a nivel de especie (Walker et al. 2007). Por tanto, el debate de si los HMA se rigen por patrones biogeográficos similares al resto de hongos (y otros organismos) o si son organismos sumamente ubiqüistas está todavía abierto (Bruns et al. 2017; Bruns y Taylor, 2016).



La separación espacial, y por consiguiente la distribución espacial de los organismos, puede mostrar distintos patrones según la escala a la que se estudie (cm, m, Km). Hay trabajos que abordan la variación espacial de los HMA, aunque en muchos de ellos las muestras que se toman presentan una mezcla de raíces de plantas distintas (Anderson et al. 1983; Whitcomb y Stutz, 2007; Mummey y Rillig, 2008) por lo que es difícil separar el efecto espacial del efecto especificidad Hongo-Planta. Este efecto puede ser bastante importante en el medio natural (Helgason et al. 1998; Klironomos, 2000; Bever, 2002), por lo que debe minimizarse. Sin embargo, sí hay algunos estudios que han tomado muestras de una sola especie vegetal basándose en la identificación de las esporas presentes en su rizosfera (Sylvia, 1986; Friese y Koske, 1991; Chaudhary et al. 2014) así como mediante métodos moleculares (Lekberg et al. 2007; Hazard et al. 2013; Horn et al. 2017). Tales estudios muestran que la comunidad de HMA difirió más entre localidades (separadas por Km) que entre las muestras de cada localidad; mientras que también hay evidencias de que los HMA son capaces de una gran variabilidad entre plantas vecinas de la misma especie (Rasmussen et al. 2018).

Otro factor importante son las perturbaciones abióticas, ya sean naturales o antrópicas, las cuales pueden originar sucesiones primarias o secundarias. Éstas juegan un papel fundamental en la distribución de los organismos y, en particular, de los HMA (Allen et al. 1987; Allen, 1991; Allen et al. 1998). Se ha descrito que los HMA pueden llegar más rápido que las plantas a un hábitat perturbado y modular, de tal modo, la sucesión (García de León et al. 2016). Tal evidencia está en consonancia con la "Driver Hypothesis" (Hart et al. 2001), que sugiere que son los HMA los que condicionan la comunidad vegetal. En definitiva, hay abundante literatura donde se documenta el efecto de las perturbaciones antrópicas (Abbott et al. 1983; Miller, 1987; Sieverding, 1990; Allen, 1991; Johnson y Pflieger, 1992; Eom et al. 2001; Jansa et al. 2002) y naturales (Bentivenga y Hetrick, 1991; Eom et al. 1999; Dhillon y Anderson, 1993) en la distribución de los HMA. Para finalizar con los factores abióticos y su influencia en la distribución de los HMA, es evidente que todos los factores abióticos comentados anteriormente pueden entrar en interacción y estas interacciones influir en la distribución de los HMA (Fig. 1.7). Un ejemplo de esto es el efecto de la interacción entre clima, propiedades del suelo y localización geográfica en la distribución de los HMA descrita por Xu et al. (2017).

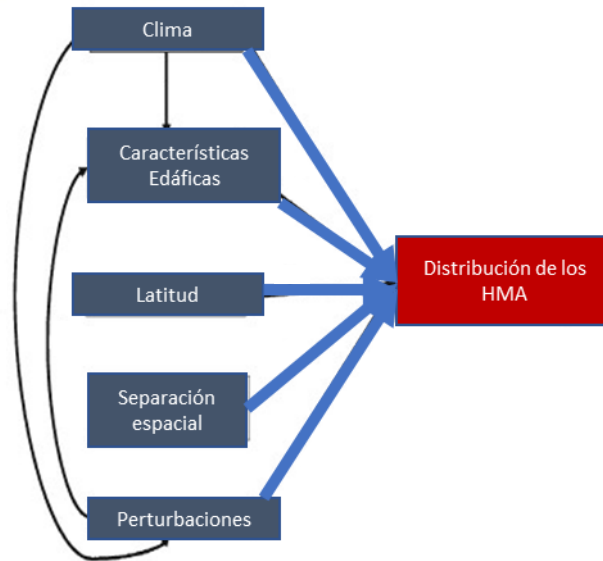


Fig. 1.7. Factores externos abióticos interaccionando entre sí y con la distribución de los HMA (las flechas indican las relaciones causales teóricas, modificado de Chaudhary et al. 2008).

Los factores bióticos pueden desglosarse, básicamente, en planta huésped, interacciones inter e intraespecíficas y sus interacciones. Respecto a la influencia de la planta huésped en la distribución de los HMA, hay poco más de 300 especies de HMA descritas (<http://www.amf-phylogeny>) y más de 200000 especies de plantas capaces de ser micorrizadas (Brundrett, 2009). Por ello, es fácil asumir que no existe una elevada especificidad Hongo-Planta y la visión de los HMA como grupo funcional se ve reforzada (Öpik et al. 2009; Chagnon et al. 2015). Sin embargo, algunos estudios muestran que los HMA exhiben una elevada (aunque no absoluta) especificidad con la planta huésped (Johnson et al. 1992; Bever et al. 2001; Sanders, 2002; Yang et al. 2012; Hazard et al. 2013). Esta especificidad puede ocurrir a nivel poblacional del huésped, indicando adaptación local tanto del hongo como de la planta (Schultz et al. 2001) y puede variar según el tipo de vegetación (Rodríguez-Echeverría et al. 2017). Todo lo expuesto debe considerarse al evaluar el efecto de la introducción de plantas invasoras sobre las comunidades de HMA nativas. De hecho, se ha observado en áreas donde dominan plantas invasoras un decaimiento en el número de especies de HMA respecto a áreas con vegetación nativa (Mummey y Rillig, 2006); sin embargo, otras evidencias muestran que la influencia de las plantas invasoras sobre los HMA está más relacionada con el hecho de que éstas plantas sean o no de diferentes grupos funcionales a las nativas (Bunn et al. 2015). En cuanto a las interacciones inter e intraespecíficas, la interacción Hongo-Planta es, efectivamente, una interacción interespecífica. Sin embargo, puesto que los HMA dependen de las plantas para completar su ciclo vital la hemos tratado anteriormente de modo independiente.

Respecto a otras interacciones interespecíficas de los HMA tales como dispersión, micofagia, competición y facilitación, éstas pueden influir en la ampliación o reducción de la distribución de los HMA. Por ejemplo, muchos animales que habitan bajo tierra (ej.: nemátodos) se alimentan de esporas de HMA y su distribución puede ser alterada dependiendo de que éstas sean digeridas o no en el tubo digestivo (Allen, 1991; Gange y Brown, 2002). Al mismo tiempo, los HMA pueden interactuar con sus depredadores (nemátodos) de forma indirecta a través de la planta. Hay estudios que revelan la segregación de componentes fenólicos que actúan disminuyendo la supervivencia de los nemátodos (fitófagos) por parte de la planta cuando ésta es inoculada por un consorcio de HMA (Banuelos et al. 2014). También está documentada la respuesta diferencial de la planta frente a los nemátodos fitófagos cuando ésta ha sido inoculada con distintos HMA (da Silva et al. 2017b). Por tanto, las interacciones inter o intraespecíficas de los HMA juegan un papel clave en su distribución aunque todavía están, en su mayoría, por estudiar. Finalmente, para acabar con el bloque que concierne a los factores bióticos, debe comentarse que las interacciones entre factores biológicos, al igual que las abióticas, son importantes en la distribución de los HMA (Fig. 1.8). Como ejemplo, podríamos citar la interacción de patógenos (nematodos y diversos grupos fúngicos) y vegetales con los HMA, siendo ésta interacción beneficiosa para la planta huésped (Veresoglou et al. 2012).

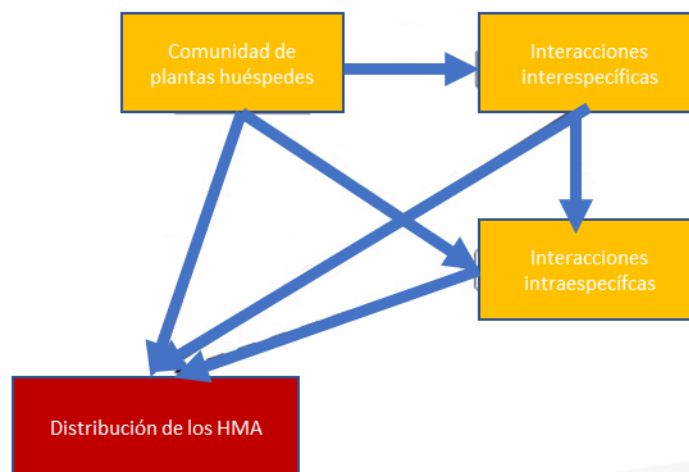


Fig. 1.8. Factores bióticos interaccionando entre sí y con la distribución de los HMA de forma directa o indirecta (las flechas indican las relaciones causales teóricas, modificado de Chaudhary et al. 2008).

El último bloque de factores que determina la distribución de los HMA se refiere a sus propiedades intrínsecas tales como capacidad de dispersión, extinción o especiación e interacciones entre estas propiedades intrínsecas. La capacidad de dispersión vendrá definida por los propágulos de HMA. Éstos pueden dividirse en esporas (en esporocarpos, agregados o sueltas), segmentos de hifas y fragmentos

de raíces colonizadas (Jasper et al. 1989). Tan solo para ilustrar la capacidad intrínseca de los HMA para la dispersión podemos fijarnos en la evidencia de que algunas esporas pueden dispersarse por el viento hasta 2 Km de distancia (Warner et al. 1987). Evidentemente, esta capacidad de dispersión estará influida, entre otros factores, por el tamaño de los propágulos que puede variar de forma significativa tanto inter como intraespecíficamente (Goto y Maia, 2006; <http://fungi.invam.wvu.edu>). Por ejemplo, puede ir de 22 a 1050  $\mu\text{m}$  según la especie o de 180-380  $\mu\text{m}$  a nivel intraespecífico para el tamaño de las esporas. Además, es bien conocido que tanto las hifas como las esporas pueden ser dispersadas por animales, ya sea por ingestión o por zoocoria (McIlveen y Cole, 1976; Ponder, 1980; Rabatin y Rhodes, 1982; Rothwell y Holt, 1978; Allen, 1991; Janos et al. 1995; Gange y Brown, 2002; Gehring y Whitham, 2002). Evidentemente, la forma, presencia de ornamentaciones, etc, de las esporas influirá en la capacidad de dispersión. Por otro lado, se ha demostrado que la diversidad de HMA en el interior de las raíces no necesariamente se correlaciona con la de la rizosfera (Jakobsen et al. 1992; Munkvold et al. 2004; Hempel et al. 2007; Saks et al. 2014; Varela-Cervero et al. 2015). En definitiva, la fenología de los HMA puede generar distintas comunidades fúngicas en la rizosfera o en las raíces, influyendo en la partición de nicho tanto espacial y temporal de los HMA (Pringle y Bever, 2002) y, consecuentemente, en su capacidad de dispersión.

En cuanto a la capacidad de especiación y extinción, debe decirse que los procesos evolutivos condicionan las distribuciones pasadas y presentes de las especies (Brown y Gibson, 1983). La especiación se logra a través de procesos como la mutación, deriva genética y selección natural. Estos procesos pueden originar cambios genéticos entre poblaciones de una misma especie y, en consecuencia, el cambio de distribución de las especies. La extinción se logra por la erradicación de poblaciones de una especie, lo que llevará a la reducción de la distribución de dicha especie (Chaudhary et al. 2008). En general, se considera que los microorganismos poseen altas tasas de especiación debido a su elevada tasa de generación, a la transferencia horizontal de genes y, entre otras, a las altas densidades de población (Lenski y Travisano, 1994; Rainey y Travisano, 1998) que, unido al aislamiento, contribuyen a aumentar la especiación (Falush et al. 2003). Por otro lado, una elevada capacidad de dispersión podría tener el efecto contrario debido a un mayor flujo génico entre las poblaciones. Al mismo tiempo, organismos con una elevada capacidad de dispersión presentarán menor probabilidad de extinción por razones estocásticas (Martiny et al. 2006). Por todo lo expuesto, y ante las evidencias actuales de que los HMA presentan una amplia distribución (Morton y Bentinga, 1994; Davison et al. 2015), cabría esperar una baja tasa de especiación. También hay evidencias de la existencia de distintos haplotipos de una misma especie de HMA que conviven en un mismo hábitat e interactúan de forma distinta con las plantas (Koch et al. 2006), lo que podría sugerir una diferenciación de nicho. Sin embargo, el número de mutaciones sugiere que la divergencia es más

antigua que el propio hábitat en el que dicha población se encuentra. Por tanto, tal divergencia ha debido ocurrir en un hábitat distinto (Rosendahl, 2008). En definitiva, existe todavía un gran desconocimiento acerca de los procesos de extinción y especiación en los HMA (Chaudhary et al. 2008) aunque las evidencias existentes apuntan a que su diversificación es antigua. Finalmente, las interacciones entre propiedades intrínsecas de los HMA contribuirán, necesariamente, en su distribución (Fig. 1.9). Por ejemplo, una especie que presenta una alta capacidad de dispersión podrá sortear mejor cada evento local de extinción y, al mismo tiempo, habrá mayor flujo génico (anastomosis de hifas con distintos tipos de núcleos) entre poblaciones; en consecuencia, la especiación será menor y también la extinción. Por el contrario, otra especie con una capacidad de dispersión limitada estará más condicionada por los eventos estocásticos de extinción, en las poblaciones que se mantienen aisladas podrán suceder eventos de especiación (aún admitiendo reproducción asexual; Fontaneto et al. 2007) y, finalmente, su distribución se verá reducida. En definitiva, todavía existe un gran hueco de conocimiento en la biología de los HMA en cuanto al tipo de reproducción (Corradi y Brachmann, 2016), autoecología y procesos evolutivos (Chaudhary et al. 2008), así como un acalorado debate acerca del concepto de especie (Bruns et al. 2017; Bruns y Taylor, 2016) que dificultan la comprensión biogeográfica de los HMA.

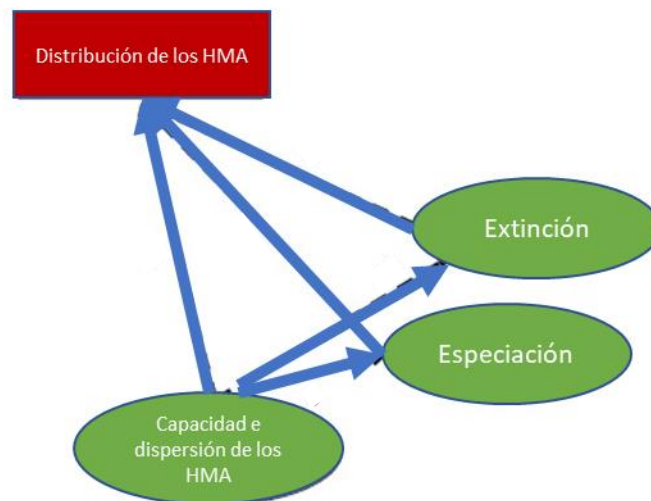


Figura 1.9. La capacidad intrínseca de dispersión influye en la capacidad de especiación o extinción de los HMA. Consecuentemente, las capacidades intrínsecas de los HMA influyen en su distribución (las flechas indican las relaciones causales teóricas, modificado de Chaudhary et al. 2008).

### 1.3. Ecosistemas dunares marítimos y HMA

Las dunas primarias costeras son ambientes hostiles donde las especies vegetales están sujetas a condiciones adversas tales como inundaciones de agua marina, alta salinidad del suelo, altos niveles de irradiación solar y, entre otras, una reducida disponibilidad de agua y nutrientes (levinsh, 2006). En estos ecosistemas, la asociación de las plantas con los HMA es probablemente la clave para el mantenimiento de la vegetación en un ambiente tan hostil (Koske et al. 2004; Alarcón y Cuenca, 2005; levinsh, 2006; Maun, 2009; Willis et al. 2016). De hecho, la asociación HMA-Planta presenta múltiples beneficios para las plantas, tal y como se ha comentado en la sección 1.2.2. Específicamente en estos hábitats puede ser de gran importancia el hecho de que los HMA promueven la resistencia de las plantas frente a la sequía y al estrés salino mejorando la absorción de nutrientes minerales (Cantrell y Linderman, 2001), manteniendo el equilibrio de iones (Giri et al. 2007), protegiendo las actividades enzimáticas y facilitando la absorción de agua (Colla et al. 2008; Beltrano et al. 2013). Además, el uso de HMA adaptados a la salinidad podría ser un tema crítico para el éxito en la recuperación de áreas salinas en ambientes naturales o en tierras agrícolas que han sido salinizadas debido a un uso inapropiado de la tierra (Estrada et al. 2013a). De hecho, estudios recientes han demostrado que algunos HMA de ambientes de suelos extremos son capaces de incrementar la resistencia a la salinidad en las plantas de cultivo (Estrada et al. 2013b, Thirkell et al. 2017).

Los hábitats de dunas costeras se caracterizan por un gradiente ambiental complejo de costa a tierra adentro que determina la coexistencia de comunidades vegetales específicas en un área relativamente pequeña (Fig. 1.10; Costa y Mansanet, 1981; Costa et al. 1986; Costa, 1987). Según la Directiva de hábitats de la Comisión Europea (92/43/CEE), las dunas de arena en la costa mediterránea se pueden dividir en hábitats diferentes según su posición con respecto al mar y el tipo de vegetación dominante (Gracia et al. 2009a,b). Por lo tanto, más cerca del mar, en la costa, encontramos las dunas embrionarias corresponden al hábitat 2110; más hacia el interior, protegido de inundaciones marinas, se encuentra una cresta de dunas móviles correspondiente al hábitat 2120; y entre ambos hábitats, se puede distinguir un tipo intermedio de vegetación con mayor grado de continuidad que las dunas embrionarias, pero menos desarrollado que las dunas móviles, que aquí se considera como el ecotono. En las Tablas 1.3-4 se pueden consultar las características diagnósticas de las dunas embrionarias y móviles.



Figura 1.10. Transecto ideal del sistema de dunas de la Devesa del Saler (Valencia), según Costa (1987). 1. Hábitat 2110 “Dunas móviles embrionarias”, 2. Hábitat 2120 “Dunas móviles del litoral o dunas blancas”. 3. Hábitat 2210 “Dunas fijas del litoral del *Crucianellion maritimae*”. 4 y 5. Hábitat 2190 “Depresiones intradunares húmedas”. 6. Hábitat 2270 “Dunas con bosques de *Pinus pinea* L. o *Pinus pinaster* Aiton”.

Tabla 1.3. Tabla diagnóstica de las dunas embrionarias (tipo de hábitat 2110; Gracia et al. 2009a)

|                              |  |
|------------------------------|--|
| Altura                       | Muy baja (< 1m)  |
| Anchura                      | Pequeña (pocos metros)                                     |
| Logitud                      | Variable, generalmente < 100m                              |
| Movilidad                    | Muy alta   |
| Desarrollo edáfico           | Inexistente  |
| Exposición al oleaje         | Máxima   |
| Cobertura vegetal            | Muy baja a media   |
| Especie diagnóstica          | <i>Elymus farctus</i>                                      |
| Habitats dunares compatibles | 2120, 2130, 2190, 2250, 2150, 2210, 2230, 2240, 2260, 2270 |

Tabla 1.4. Tabla diagnóstica de las dunas móviles (tipo de hábitat 2120; Gracia et al. 2009b)

|                              |                                       |
|------------------------------|---------------------------------------|
| Altura                       | Media a alta (> 1m)                   |
| Anchura                      | Pequeña (pocos metros)                |
| Logitud                      | Variable, generalmente < 100m         |
| Movilidad                    | Baja a moderada                       |
| Desarrollo edáfico           | Inexistente                           |
| Exposición al oleaje         | Media, durante los mayores temporales |
| Cobertura vegetal            | Media                                 |
| Especie diagnóstica          | <i>Ammophila arenaria</i>             |
| Habitats dunares compatibles | Todos                                 |

La perturbación antropogénica ha afectado drásticamente a la costa mediterránea ibérica, y en particular al Golfo de Valencia, zona de estudio de la presente tesis doctoral. Inicialmente fueron las actividades agrícolas (Cavanilles, 1795) y más tarde el desarrollo urbano (Roselló-Verger, 1969) los que llevaron a la práctica desaparición de los sistemas dunares marítimos más alejados del mar, como por ejemplo las dunas fijas (hábitat 2210) y hábitats posteriores. Como consecuencia, las dunas

embrionarias y las móviles son las más abundantes y, en la mayor parte de la costa mediterránea, la única forma de vegetación (Gracia et al. 2009a). Por ello, presentan un alto valor ecológico y conservacionista (Gracia et al. 2009a,b; Comisión Europea 92/43 / CEE).

La gramínea *Elymus farctus* (Viv.) Runemark ex Melderis (Fig. 1.11 A) domina las dunas embrionarias y el ecotono, y tiene un papel importante en las dunas móviles (Gracia et al. 2009a, b). Esta especie, junto con *Ammophila arenaria* (L.) Link (Fig. 1.11 B), es importante y muy utilizada para la restauración dunar (Ley et al. 2007) debido a su resistencia al enterramiento (Ranwell, 1958). En el Golfo de Valencia, y concretamente en el Parque Natural de La Albufera, las restauraciones de estos hábitats han sido llevadas a cabo por la Oficina Técnica Devesa-Albufera (OTDA) desde la década de los 80. Otras especies de plantas comunes en estos hábitats (especialmente en las dunas móviles), y que además aportan una gran biomasa y cobertura vegetal al sistema, son *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link y *Echinophora spinosa* L. (Fig. 1.11 C-D), ambas con interés conservacionista.



Figura 1.11. Especies vegetales muestreadas. A: *E. farctus*, B: *A. arenaria*, C: *O. maritimus*, D: *E. spinosa*.

En las dunas marítimas del Mediterráneo, el clima hace que la salinidad fluctúe estacionalmente y a lo largo de un gradiente. Estas diferencias estacionales en las características abióticas afectan a la distribución de las plantas que, a su vez, pueden influir en los patrones espaciales y temporales de los HMA (Carvalho et al. 2001). Además, algunos estudios indican que los HMA están influenciados por la



planta huésped (Kawahara y Ezawa, 2013; Pagano et al. 2013; Soteras et al. 2016) y las características abióticas a nivel local y global, como el gradiente de la línea costera a tierra adentro (Koske, 1975; Koske, 1987), pH del suelo (Stürmer et al. 2018), C orgánico (Davison et al. 2015) y factores climáticos (Bennett et al. 2013; Hazard et al. 2013; Pellissier et al. 2014). Sin embargo, aún se necesita más información sobre la distribución y la diversidad de estos hongos para comprender los factores que configuran las comunidades de HMA (Xu et al. 2016).

Hay trabajos recientes sobre la variación de la comunidad de HMA a nivel regional para ecosistemas costeros arenosos en Brasil (de Assís et al. 2016; da Silva et al. 2017a), India (Willis et al. 2016), Turquía (Aytok et al. 2013), Dinamarca (Błaszowski y Czerniawska, 2011), Hungría (Balázs et al. 2015), Polonia (Błaszowski et al. 2002), Italia (Turrini et al. 2010) y Portugal (Carvalho et al. 2001; Rodríguez-Echeverría y Freitas, 2006; Rodríguez-Echeverría et al. 2008). En España, la variación de la comunidad de HMA a nivel regional ha sido estudiada para un área pequeña en la costa noreste de la península (Camprubí et al. 2010) y en el Parque Natural Cabo de Gata, Almería (Estrada et al. 2013a). También se han estudiado las variaciones estacionales en dunas costeras (Stürmer y Bellei, 1994; Jobim y Goto, 2016) y otros hábitats arenosos (Santos-González et al. 2007; Neffar et al. 2015) en otras regiones. Sin embargo, hasta la fecha, no hay ningún trabajo que aborde las variaciones espacio-temporales de HMA en la zona de estudio pese a la importancia de éstos para las plantas en los ecosistemas dunares. Además, las dunas embrionarias (hábitat 2110) y móviles (hábitat 2120), así como todo el ecosistema dunar, presentan una vital importancia conservacionista para la Unión Europea (UE) tanto a nivel biológico como socio-económico (Ley et al. 2007; Gracia et al. 2009a,b). Por todo ello, conocer la biodiversidad *sensu amplo* de estos sistemas es el primer paso para su conservación y recuperación.

#### **1.4. OBJETIVOS**

En base a lo anteriormente expuesto los objetivos del presente trabajo son:

1. Determinar y describir los HMA en 6 localidades del Golfo de Valencia (Valencia, España).
2. Crear un banco de germoplasma de HMA de los hábitats estudiados.
3. Estudiar las variaciones espacio-temporales de los HMA en las localidades objeto de estudio.

## 2. MATERIAL Y MÉTODOS

### 2.1. Localidades y hábitats de estudio

Las localidades objeto de estudio "La Garrofera" (39°21'26''N; 0°18'55''W), "El Perelló" (39°17'11''N; 0°16'49''W), "Les Palmeres" (39°15'42''N; 0°15'55''W), "El Dosser" (39°11'26''N; 0°13'25''W), "Sant Antoni" (39°09'14''N; 0°14'25''W) y "Burguera" (Fig. 2.1; Fig. 2.2) se encuentran en la provincia de Valencia (España). Concretamente, "La Garrofera" se encuentra ubicada en la pedanía de "El Saler" de la ciudad de Valencia; "El Perelló" y "Les Palmeres" en el municipio de Sueca; "El Dosser" y "Sant Antoni" en Cullera; y "Burguera" en Oliva. "La Garrofera", "El Perelló", "Les Palmeres" y "El Dosser" se encuentran dentro del parque natural de la Albufera.

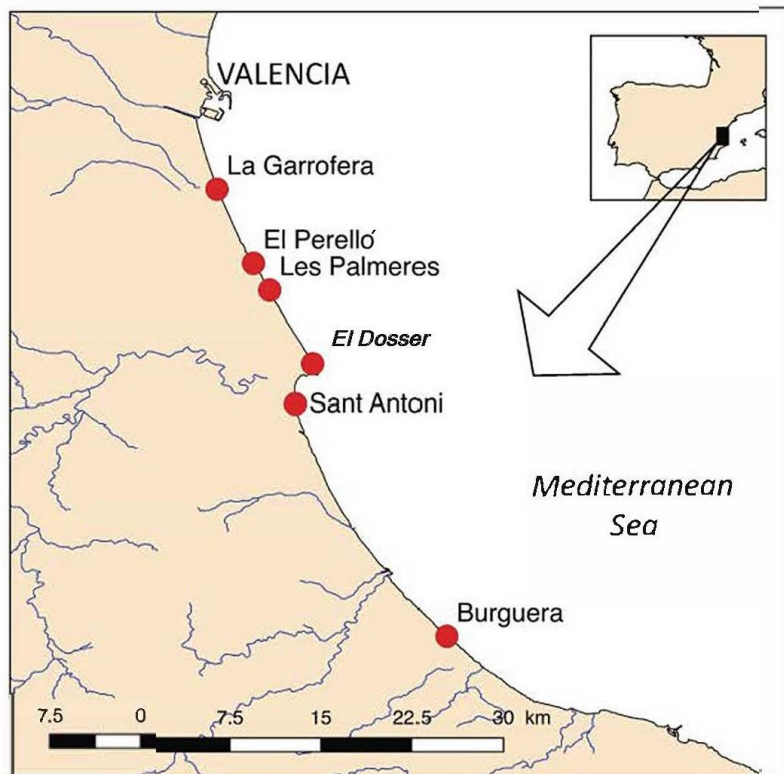


Figura 2.1. Área de estudio en el Golfo de Valencia (España).

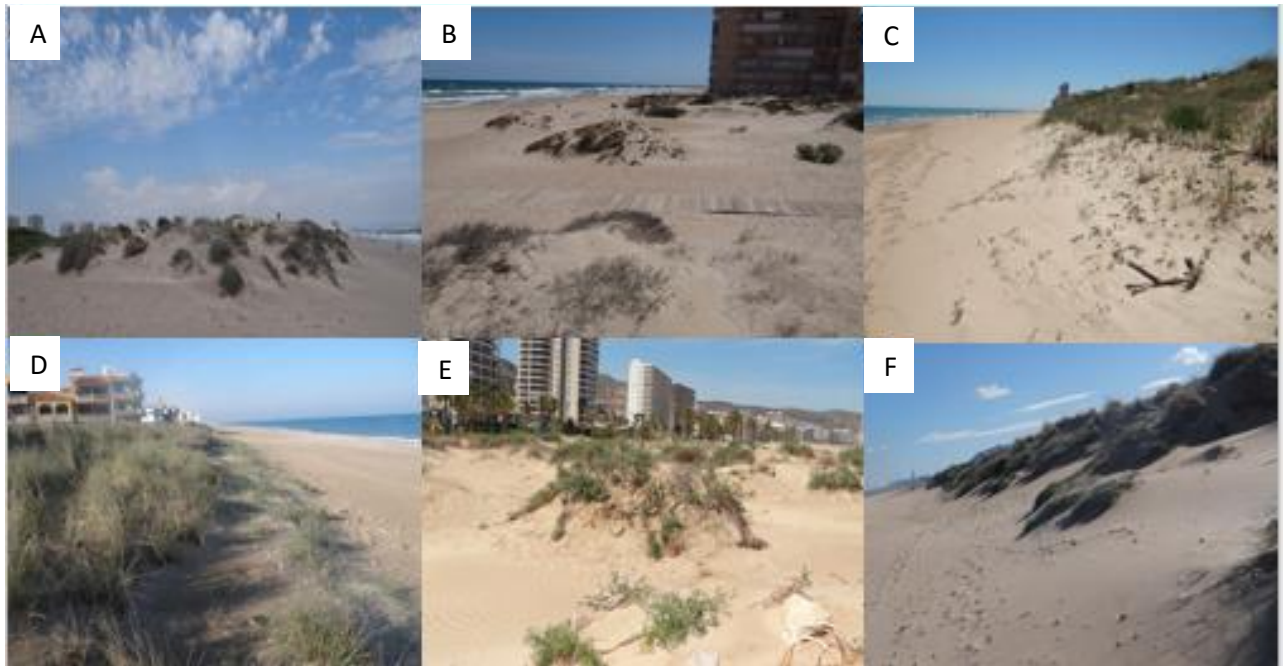


Figura 2.2. Localidades de muestreo. A: “La Garrofera”, B: “El Perelló”, C: “La Lotería”, D: “El Dossier”, E: “Sant Antoni” y F: “Burguera”.

Desde un punto de vista bioclimático se encuentran ubicadas en el Macrobioclima Mediterráneo y, a su vez, dentro del Bioclima Mediterráneo Pluviestacional Oceánico (López et al. 2008). A nivel biogeográfico, atendiendo a su flora y comunidades vegetales, todas ellas pertenecen a la provincia Catalano-Valenciano-Provenzal del sector corológico setabense (Rivas-Martínez et al. 2004). A nivel geológico, se encuentran en la Placa Ibérica y, más concretamente, en el Golfo de Valencia. Éste comprende las costas de Castellón y Valencia cuyo trazado se caracteriza por su forma en arco, quedando delimitado por la protuberancia del Delta del Ebro y el Cabo de San Antonio al sur. Dentro de dicho arco coinciden varias alineaciones tectónicas: Cadena Costero-Catalana en el sector Norte; Cadena Ibérica en el sector Centro-Meridional; y las últimas estribaciones de la Cadena Bética en el sector Sur del arco (Díaz del Olmo, 1994). El área de estudio se encuentra en el sector Centro-Meridional. Respecto al tipo de suelo de las localidades estudiadas podemos clasificarlo como “Arenosoles Calcáreos” (Forteza et al. 1995; Rubio et al. 1998). Finalmente, desde un punto de vista fitocenológico, en todas las localidades se muestreó parte de la catena de vegetación correspondiente a los ecosistemas dunares mediterráneos (Costa y Mansanet, 1981). Los hábitats muestreados fueron: hábitat 2110 (dunas embrionarias); hábitat 2120 (dunas móviles del litoral con *Ammophila arenaria* (L.) Link) del anexo I de la Directiva 92/43/CEE (Gracia et al. 2009a,b) así como el ecotono que se establece entre ambos (Fig. 2.3).

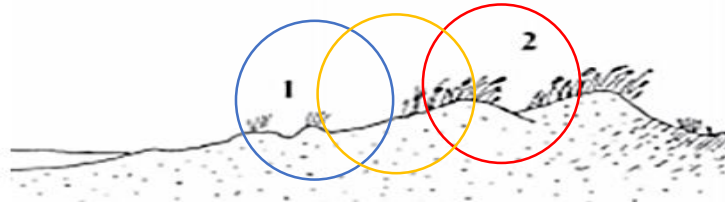


Figura 2.3. Hábitat 2110 “Dunas embrionarias”, 2. Hábitat 2120 “Dunas móviles o dunas blancas”. Entre ambos hábitats se encuentra el ecotono (modificado de Costa, 1987).

## 2.2. Identificación de especies vegetales

En las parcelas delimitadas de 200 m<sup>2</sup> (100 x 2 m) en cada hábitat de cada localidad se identificaron las especies vegetales presentes utilizando la guía de determinación de Mateo y Crespo, (2009). Se siguió la nomenclatura del sitio web: [www.theplantlist.org/](http://www.theplantlist.org/). La nomenclatura hasta el nivel de subespecie se muestra en las tablas del Anexo III.

## 2.3. Muestreo

Para estudiar los efectos espaciales, temporales y de las especies vegetales en la esporulación de HMA, se eligieron las especies de plantas *Elymus farctus* (Viv.) Runemark ex Melderis, *Ammophila arenaria* (L.) Link. (gramíneas), *Otanthus maritimus* (L.) Hoffmanns. & Link (compuesta) y *Echinophora spinosa* L. (umbelífera) características de estos hábitats (Gracia et al. 2009a,b). Las muestras de suelo se recolectaron cada tres meses desde noviembre de 2014 hasta agosto de 2016 (durante dos años, 4 muestreos / año) en las siguientes fechas: 15-Noviembre del 2014 y 2015; 15-Febrero del 2015 y 2016; 15-Mayo del 2015 y 2016; 15-Agosto del 2015 y 2016.

Se muestreó la rizosfera de las 4 especies vegetales descritas anteriormente en parcelas delimitadas de 200 m<sup>2</sup> (100 x 2 m) en cada hábitat de cada localidad durante cada muestreo (estación de cada año). Debe tenerse en cuenta que no todas las especies de plantas se encontraron en cada parcela de muestreo (Tabla 2.1). De cada especie vegetal se recolectaron al azar 5 muestras de suelo (tomadas a 20 cm de profundidad) con un cilindro de 4.5 cm de diámetro metido a presión (Fig. 2.4 A-B). Las muestras se empacaron en bolsas de plástico, se transportaron al laboratorio, se secaron a temperatura ambiente (Fig. 2.4 C) y se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento. Se recogieron y procesaron un total de 1440 muestras.

Tabla 2.1. Muestreo según localidades (P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”) y hábitats (DE: dunas embrionarias; E: ecotono; y DM: dunas móviles) en diferentes estaciones de cada año y en cada especie vegetal (*Ef*: *E. farctus*; *Aa*: *A. arenaria*; *Om*: *O. maritimus* y *Es*: *E. spinosa*). Se marcó con \* la especie vegetal que no apareció durante el primer año.

| Localidad | Otoño                 | Invierno              | Primavera             | Verano                |
|-----------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| P1        | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> |
| P2        | <i>Ef, Es</i>         | <i>Ef, Es</i>         | <i>Ef, Es</i>         | <i>Ef, Es</i>         |
| P3        | <i>Ef, Aa, Om</i>     | <i>Ef, Aa, Om</i>     | <i>Ef, Aa, Om</i>     | <i>Ef, Aa, Om</i>     |
| P4        | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> |
| P5        | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     |
| P6        | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     | <i>Ef, Aa, Es</i>     |
| Hábitat   |                       |                       |                       |                       |
| DE        | <i>Ef*</i>            | <i>Ef,</i>            | <i>Ef,</i>            | <i>Ef,</i>            |
| E         | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> |
| DM        | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> | <i>Ef, Aa, Om, Es</i> |



Figura 2.4. Muestreo en el campo (A y B) y secado de muestras a temperatura ambiente (C).

## 2.4. Análisis de suelo

### 2.4.1 pH, conductividad eléctrica (CE) y cantidad de raíces finas en el suelo

El pH del suelo y la conductividad eléctrica (CE) se determinaron mezclando suelo muestreado (16g/muestra) y agua destilada (1: 2.5 p/v). Inicialmente solo se realizó con las muestras recogidas en la primavera de 2016 a partir de la rizosfera de cada una de las cuatro especies de plantas correspondientes a las localidades “La Garrofera” y “El Dosser” en las dunas móviles para determinar si había diferencias (de pH, CE y cantidad de raíces finas) entre las rizosferas de cada especie vegetal, puesto que en tales localidades y hábitat se encontraban todas las especies vegetales (Tabla 2.1). Posteriormente se repitió para las muestras de la rizosfera de *E. farctus* (la única especie de planta presente en todos los hábitats) recolectada en cada estación, hábitat y localidad. Las medidas se

realizaron con un medidor de pH CRISON™ Basic 20 y un medidor EC CRISON™ Basic 30+. La cantidad de raíces finas para las muestras analizadas se midió con una balanza de precisión (METTLER™ AT261) pesando la muestra después de un tamizado seco (malla de 1 mm).

#### 2.4.2. Determinación de la composición del suelo

Se mezclaron 5 muestras (16g de cada una) de suelo de la especie *E. farctus* correspondientes a cada localidad de estudio en las dunas móviles durante la estación de primavera del año 2016. Se obtuvieron 3 réplicas de cada muestra compuesta. Estas muestras fueron procesadas por el servicio de la sección de Espectroscopía Atómica del Servei Central de Suport a la Investigació Experimental (SCSIE) de la Universitat de València sometiéndolas a un proceso de digestión en medio ácido en horno microondas a 220°C, previa homogeneización en molino de bolas. La determinación multielemental (Na, Mg, Al, Si, P, K, Ca, Mn, Fe, Cu, Zn) se realizó por ICP-MS, en un equipo Agilent modelo 7900.

#### 2.5. Extracción, identificación, descripción y cuantificación de esporas de HMA en muestras de campo

Se extrajeron esporas y esporocarpos de 7 submuestras de 16 g de cada muestra de suelo mediante la técnica de tamizado en húmedo (Gerdermann y Nicolson, 1963). Las esporas y esporocarpos de HMA se separaron en morfotipos, bajo un microscopio de disección (40 x), y se montaron en portaobjetos de vidrio usando alcohol polivinílico en lactoglicerol (PVLG) y PVLG + reactivo Melzer (1: 1 v / v). Estas preparaciones se conservaron en la sección departamental del Depto. de Botánica y Geología de la Facultat de Farmàcia de la Universitat de València.

La identificación y descripción de especies se basó en un manual de identificación (Blaszkowski, 2012), junto con las descripciones taxonómicas originales en el INVAM (<https://invam.wvu.edu>) y las descripciones más recientes de Blaszkowski et al. (2014, 2015a,b) siguiendo la clasificación propuesta por Oehl et al. 2011 con actualizaciones (Redecker et al. 2013; Blaszkowski et al. 2017; Symanczik et al. 2018). Para la identificación y descripción de los HMA se utilizaron 25 esporas de cultivo puro obtenidos según se detalla en la sección 2.6. Cuando no fue posible conseguir cultivo puro la descripción se llevó a cabo a partir de esporas de campo. La nomenclatura seguida fue la del sitio web: <http://www.indexfungorum.org>. La presencia o ausencia de cada una de las especies identificadas se anotó para cada submuestra.

#### 2.6. Cultivos puros de HMA

Como inóculo se utilizaron de 10 a 20 esporas de cada morfotipo de HMA proveniente de muestras de campo donde tales morfotipos fuesen representativos. Se preparó una mezcla con perlita:arena de playa de la localidad de "Sant Antoni" (1:1) esterilizada en autoclave (ver sección 2.8). A continuación,

la mezcla se repartió en alvéolos con soporte (modelo forest pot 400) previamente lavados con hipoclorito sódico al 2% (v/v) y aclarados con agua desionizada estéril. Finalmente, para reproducir los HMA se utilizaron esquejes de plantas nativas de los hábitats objeto de estudio así como plantas no nativas a partir de semillas. Las plantas nativas fueron *O. maritimus* y *Sporobolus pungens* (Schreb.) Kunth provenientes de “La Garrofera” que se lavaron superficialmente antes de su siembra inicialmente con hipoclorito sódico al 2% (v/v) y a continuación 3 veces con agua desionizada estéril durante 10 min. En el momento de la siembra se les aplicó ácido indolebutírico (IBA, 5000 ppm) en polvo para facilitar su enraizamiento. También se utilizaron semillas de *Allium porrum* L. y *Trifolium pratense* L. desinfectadas mediante el mismo procedimiento. Los cultivos se iniciaron en abril del segundo y tercer año (2016 y 2017, respectivamente) y se mantuvieron en invernadero durante 3 meses con un riego de 50 ml de agua por maceta a la semana. Se llevaron a cabo 5 repeticiones por especie de HMA en cada especie vegetal.

#### 2.6.1. Tinción de estructuras simbióticas de los HMA en cultivo puro

Para la tinción de estructuras simbióticas se siguió el método descrito por Phillips y Hayman (1970) modificado por Blaszkowski (2012). Se tomaron segmentos de raíz de 0.5-1.5 cm de longitud y se calentaron a 90°C en KOH al 20% durante 1-2 h dependiendo del color y grosor de las raíces. A continuación, se aclararon con agua corriente y se calentaron durante 1h con HCl al 20%. Finalmente, los segmentos de raíz se tiñeron durante 1-2 h con azul de tripano al 0.1% y 90°C. La aplicación de calor puede sustituirse por incubaciones de al menos 12 h en el correspondiente tratamiento.

#### 2.7. Obtención de imágenes de esporas, esporocarpos y estructuras simbióticas

Para la toma de las imágenes de los experimentos anteriormente citados se utilizó un microscopio electrónico de barrido HITACHI S-4100 (Hitachi, Japón), un estereoscopio Leica M165 y un microscopio óptico Leica DMR con sistema de captura digital de imágenes DFC 540C de alta resolución controlado mediante el programa Leica LAS core© (Leica Microsystems, Alemania).

#### 2.8. Identificación molecular

Los medios de cultivo bacteriano, tampones de extracción, sustrato para cultivo en invernadero (sección 2.6) así como material básico (viales, tubos Corning, placas, etc) se esterilizaron mediante la utilización de autoclave a 121°C y 1 atm durante 20 min.

##### 2.8.1. Extracción de DNA genómico

Para la extracción de ADN genómico se añadieron 5 esporas de campo o cultivo puro de cada morfotipo a tubos eppendorf con pinzas entomológicas y se rompieron con ayuda de puntas estériles

para micropipeta en 10  $\mu$ L de tampón de extracción. A continuación, se añadieron 640  $\mu$ L de tampón CTAB de extracción (ver más abajo los reactivos necesarios para prepararlo) a 65°C a cada tubo y se mezcló mediante un agitador vórtex durante 30 s. Acto seguido se añadió 5  $\mu$ L de RNAasa A (5mg/ml) y se calentó a 65°C durante 30 min. Tras esto se añadieron 650  $\mu$ L de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1) y se mezclaron por inversión y cono agitador vórtex y se centrifugaron los tubos a 13000 rpm durante 5 min a 4°C para separar las fases. Mientras tanto, se prepararon tubos nuevos con 650  $\mu$ L de cloroformo/alcohol isoamílico (24:1). Una vez terminada la centrifugación se recuperó la fase superior acuosa y se añadió en los tubos preparados en el paso anterior. Se agitó con fuerza y después se centrifugó a 13000 rpm durante 5 min a 4°C. Finalizada la centrifugación, se recuperó la fase superior acuosa (sin tocar la interfase), se pasó a un tubo nuevo y se añadió 1/10 volúmenes de  $C_2H_3NaO_2$  (acetato sódico) 3M con un pH al 5.2. Se mezcló bien y se añadió 1 volumen de etanol absoluto frío, se mezcló suavemente y se dejó en hielo durante 30 min. Se volvió a centrifugar a 13500 rpm durante 20 min a 4°C, se descartó el sobrenadante, lavó el “pellet” con 1 ml de etanol frío al 70%, se decantó y dejó secar durante 15 min a temperatura ambiente. Finalmente se disolvió el precipitado con 50  $\mu$ L de agua mili-Q estéril precalentada a 60°C y se midió la concentración de ADN con NanoDrop (NanoDrop 2000, Thermo Fisher Scientific).

Para preparar el tampón de extracción de ADN se tomó tampón Tris (tris(hidroximetil)aminometano) 100 mM, EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) 30 mM y NaCl 2M. Se ajustó el pH de dicha solución a 8 con HCl, se le añadió el tampón CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio) al 3% y se esterilizó mediante autoclave. Justo antes de utilizar se le añadió un 2% de PVP (polivinilpirrolidona)-40 y se calentó a 65°C hasta que se disolvió (5 minutos, aproximadamente). Después se le añadió un 2% de PVPP (polivinilpolipirrolidona) (insoluble) y un 4% de 2-mercaptoetanol.

#### 2.8.2. Amplificación por PCR anidada, visualización de ADN y purificación

Para las reacciones en cadena de la polimerasa (PCR) se utilizaron 14 cebadores (Krüger et al. 2009) (Tabla 2.2) diseñados para amplificar las regiones del ADNr 18S o también llamado subunidad pequeña (SSU, por sus siglas en inglés), ITS1, 5.8S, ITS2 y 28S o también llamado subunidad mayor (LSU) (Fig. 2.5). Se realizaron 4 mezclas con los 14 cebadores utilizando un volumen de 10  $\mu$ L de cada cebador a una concentración de 100  $\mu$ M.



Tabla 2.2. Mezclas de cebadores para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) diseñados para la amplificación de ADNr de HMA (extraído de Krüger et al. 2009).

| Primer  | Secuencia de nucleótidos        | Tamaño |
|---------|---------------------------------|--------|
| SSUmAf1 | TGG GTA ATC TTT TGA AAC TTY A   | 22     |
| SSUmAf2 | TGG GTA ATC TTR TGA AAC TTC A   | 22     |
| SSUmAf  | Mix SSUmAf1-2 (equimolar)       | 22     |
| SSUmCf1 | T CGC TCT TCA ACG AGG AAT C     | 20     |
| SSUmCf2 | TAT TGT TCT TCA ACG AGG AAT C   | 22     |
| SSUmCf3 | TAT TGC TCT TNA ACG AGG AAT C   | 22     |
| SSUmCf  | Mix of SSUmCf1-3 (equimolar)    | 20-22  |
| LSUmAr1 | GCT CAC ACT CAA AT C TAT CAA A  | 22     |
| LSUmAr2 | CT CTA ACT CAA TTC TAT CGA T    | 22     |
| LSUmAr3 | T GCT CTT ACT CAA ATC TAT CAA A | 23     |
| LSUmAr4 | GCT CTT ACT CAA ACC TAT CGA     | 21     |
| LSUmAr  | Mix of LSUmAr1-4 (equimolar)    | 21-23  |
| LSUmBr1 | DAA CAC TCG CAT ATA TGT TAG A   | 22     |
| LSUmBr2 | AA CAC TCG CAC ACA TGT TAG A    | 21     |
| LSUmBr3 | AA CAC TCG CAT ACA TGT TAG A    | 21     |
| LSUmBr4 | AAA CAC TCG CAC ATA TGT TAG A   | 22     |
| LSUmBr5 | AA CAC TCG CAT ATA TGC TAG A    | 21     |
| LSUmBr  | Mix of LSUmBr1-5 (equimolar)    | 21-22  |



Figura 2.5. Regiones del ADNr con sitios de hibridación para los cebadores utilizados (Krüger et al. 2009).

Se tomaron 23  $\mu\text{L}$  del extracto obtenido (ver sección 2.8.1) para realizar la reacción de amplificación mediante una PCR directa (PCR 1) con el kit pureTaq Ready-To-Go PCR Bead (GE Healthcare Life Sciences, UK) siguiendo las instrucciones del fabricante. A cada tubo se le añadió 1  $\mu\text{L}$  de las mezclas de cebadores SSUmAf/LSUmAr (Krüger et al. 2009), resultando una concentración de cebadores de 0.4  $\mu\text{M}$  en la solución final y con las siguientes condiciones para la PCR: desnaturalización inicial a 95°C por 5 min; 40 ciclos, cada ciclo consta de un paso de desnaturalización a 98°C por 30 s, anillamiento a 58°C por 45 s, extensión a 72°C por 55 s y una extensión final a 72°C por 10 min. Parte del producto de la PCR1 (1  $\mu\text{L}$ ) fue usado como molde para una segunda ronda de PCR, que en adelante llamaremos PCR2, con la mezcla de cebadores SSUmCf/LSUmBr (Krüger et al. 2009; Fig. 2.5) en 50  $\mu\text{L}$  de mezcla final de reacción conteniendo 10x PCR buffer (Mg 2+ plus), 2.5 mM de cada dNTP, 0.4  $\mu\text{M}$  de cada

cebador y 5 unidades/  $\mu\text{L}$  de Taq polimerasa (TaKaRa Taq de Takara Bio, Shiga, Japón) y agua estéril mili-Q (Tabla 2.3). Las condiciones de PCR fueron similares a las detalladas previamente pero con diferente temperatura de anillamiento ( $60^{\circ}\text{C}$ ) y número de ciclos (30). En caso de no conseguir amplificación, visualizada mediante gel de agarosa (ver sección 2.8.2) se procedió a la dilución (1:2, 1:10, 1:100, 1:1000) del extracto de ADN hasta encontrar la dilución correcta que nos permitiese volver a repetir la PCR 2.

| Componentes  | $\mu\text{L}$ |
|--|---------------|
| Agua mili-Q estéril                                | 35.5          |
| 10x tampón de PCR (Mg <sup>2+</sup> plus           | 5             |
| Mezcla de dNTP (2.5 mM)                            | 4             |
| Cebador SSUmCf (0.4 $\mu\text{M}$ )                | 2             |
| Cebador LSUmBr (0.4 $\mu\text{M}$ )                | 2             |
| DNA de la PCR2                                     | 1             |
| Polimeras (TaKaRa Taq) (5unidades/ $\mu\text{L}$ ) | 0.5           |

La visualización de bandas de ADN de 1500 pb se realizó mediante electroforesis en gel de agarosa (16 cm x 25 cm) al 1.2% de agarosa en TBE (Tris Borato EDTA) 1X. Los materiales utilizados para el TBE (solución madre 10X), fueron 48.4 g de Tris Base; 16.4 g de acetato sódico; 20 ml de EDTA 0.5M y pH 8.0; y agua mili-Q hasta 1L. Al gel se le agregó una concentración de 0.05mg/ml de BrEt (Bromuro de etidio) para hacer visible el ADN de interés. El tampón de carga, azul de bromofenol, se añadió a las muestras en una relación 6x: 15  $\mu\text{L}$  de producto de PCR 2 + 3  $\mu\text{L}$  de azul de bromofenol. Los productos de PCR 2 (3  $\mu\text{L}$  de azul de bromofenol + 15  $\mu\text{L}$  de cada producto de PCR 2) se verificaron por medio de electroforesis en gel de agarosa 1.2%. La intensidad aplicada fue de 80 mA durante 40 min y se fotografió en un transiluminador de luz ultravioleta (UV).

Finalmente, para la purificación del producto de la PCR 2 se utilizó el kit EnzSAP™ PCR Clean-up Reagent (Edge Bio, California, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante.

### 2.8.3. Clonación

#### 2.8.3.1. Ligación

Los productos (amplicones) resultantes de la PCR 2 del tamaño esperado fueron insertados dentro del vector pCR™2.1 (Fig. 2.6) utilizando el kit TA Cloning® (Invitrogen, Invitrogen, Carlsbad, California) siguiendo las instrucciones del fabricante. Se tomó 1  $\mu\text{L}$  de producto de la PCR 2 y se mezcló en hielo

con la reacción de ligación (Tabla 2.4), se incubó a temperatura ambiente durante 15 min y se almacenó a -20°C.

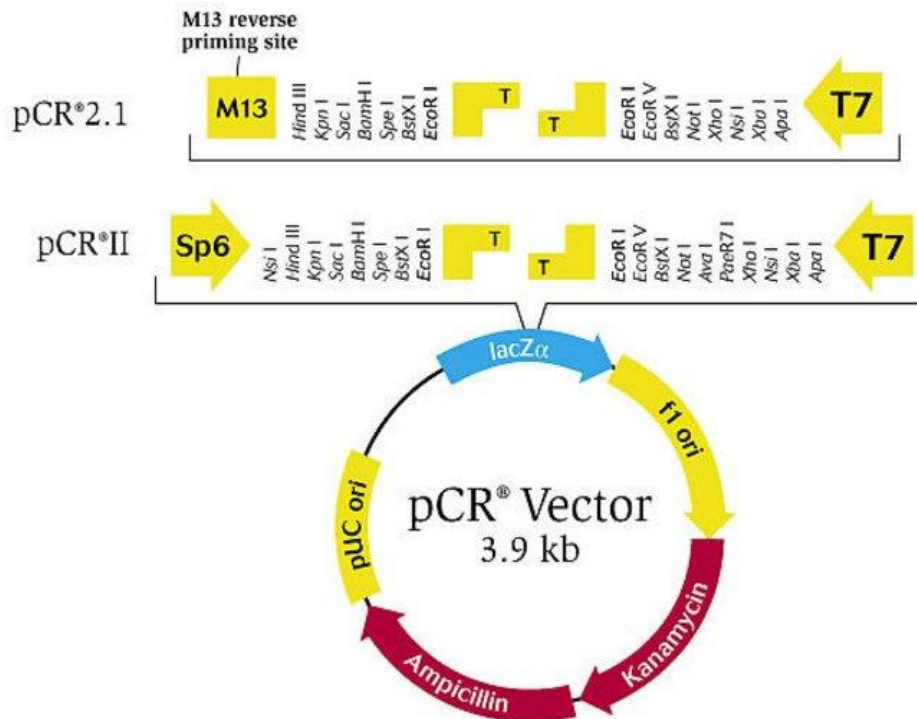


Fig. 2.6. Vector pCR™2.1.

Tabla 2.4. Reacción de ligación con el vector pCR™2.1

| Componentes                             | μL |
|---|----|
| Producto PCR 2                          | 1  |
| 5X T4 DNA Tampón de ligación            | 2  |
| Vector pCR™2.1 (25ng/μL)                | 2  |
| Agua mili-Q                             | 4  |
| Ligasa ExpressLink™ T4 (5 unidades/ μL) | 1  |

### 2.8.3.2. Transformación de células competentes

Para la transformación de células competentes se utilizó el medio “Super Optimal broth with Catabolite repression” (S.O.C.) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA) y Luria-Bertani (LB) líquido o solidificado con 15g/L de agar suplementado con Kanamicina. El medio LB contenía peptona de caseína (Tryptona) al 1%, extracto de levadura al 0.5%, NaCl al 1%, pH 7 y se esterilizó en autoclave (ver sección 2.8). Después de la esterilización y con el medio a 55°C, se adicionó Kanamicina (50 μg/L) y X-gal (5-bromo-4-cloro-3-indolil-β-D-galactopiranosido) (1 μL/ml) e IPTG

(isopropil- $\beta$ -D-1-tiogalactopiranosido) (1  $\mu$ L/ml) (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA).

Para la transformación propiamente dicha se utilizaron células de *Escherichia coli* One Shot® TOP10F' químicamente competentes, siguiendo las instrucciones del fabricante (Thermo Fisher Scientific, Waltham, Massachusetts, USA). Se pipetearon 2  $\mu$ L de cada reacción de ligación (ver sección 2.8.3.1) directamente en el vial de 50  $\mu$ L de células competentes y se mezcló agitando suavemente con la punta de la pipeta. Se incubaron en hielo durante 30 minutos y se sometieron a un choque térmico durante 30 s a 42°C sin agitación. Posteriormente, se añadieron 250  $\mu$ L de medio S.O.C. (a temperatura ambiente) a cada vial y se incubaron en agitación a 37°C durante 1 hora a 225 rpm. A continuación, se extendieron 100 y 200  $\mu$ L de cada vial de transformación en placas de LB-agar que contenían X-Gal, IPTG y Kanamicina. Las placas se incubaron a 37°C durante 10h y, finalmente, se almacenaron a 4°C para permitir el desarrollo del color adecuado que nos permitiese diferenciar las colonias con (blancas) o sin inserto (azules).

#### 2.8.4. Extracción del plásmido

Para la extracción del plásmido, se utilizó el protocolo modificado de lisis alcalina Birnboim y Doly (1979). Para ello se tomaron hasta 10 colonias blancas que se cultivaron individualmente por 12-16 h en 4 mL de medio líquido LB con 50  $\mu$ g/mL de Kanamicina en agitación (225 rpm). Posteriormente, se almacenaron a 4 °C al menos durante 12 h. Se tomó 1 ml de cultivo y se centrifugó a 7000 rpm. Se desechó el sobrenadante y se resuspendió el "pellet" con 100  $\mu$ L de una solución de lisozima (12 mg/ml de lisozima con 25 mM de Tris-HCl (pH 8.0), 10 mM de Na<sub>2</sub>EDTA y 50 mM de glucosa) por 5 min a temperatura ambiente. Seguidamente, se incubó a temperatura ambiente y en hielo durante 5 min, respectivamente. Seguidamente se adicionaron 200  $\mu$ L de NaOH (hidróxido de sodio) al 0.2 N junto con SDS (dodecil sulfato sódico) al 1%, se mezcló bien y se devolvió al hielo. A continuación, se le adicionaron 150  $\mu$ L de KCH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub> (acetato potásico) al 3M y con un pH de 4.8. Se mezcló bien y se devolvió al hielo durante 5 min. Después se centrifugó a 12000 rpm durante 5 min y se tomaron 400  $\mu$ L del sobrenadante. Se adicionaron 800  $\mu$ L de etanol al 95%, se mezcló bien y se incubó a temperatura ambiente durante 2 min. Se volvió a centrifugar a 12000 rpm durante 5 min, se lavó el "pellet" con 150  $\mu$ L de etanol al 70% y se dejó secar a temperatura ambiente durante 10 min. Finalmente, el ADN plasmídico se resuspendió en 50  $\mu$ L de agua mili-Q y cuantificado por NanoDrop.

### 2.8.5. Secuenciación

Dos clones positivos de cada morfotipo fueron secuenciados en el servicio de Genómica del Servei Central de Suport a la Investigació Experimental (SCSIE) de la Universitat de València en ambas direcciones (“forward” y “reverse”), con los cebadores M13F Y M13R en un equipo 3730 DNA Analyzer (Applied Biosystems, EEUU).

### 2.8.6. Filogenia

Se realizó una búsqueda de las secuencias más próximas utilizando BLAST (Zhang et al. 2000). Se tomaron estas secuencias así como secuencias correspondientes a tipos nomenclaturales de HMA. En todas las secuencias se consideró parte de la región SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU del ADNr. El conjunto de secuencias fue alineado con AliView (Larsson, 2014) y se realizó un test filogenético con un Bootstrap de 1000 repeticiones utilizando el método de Máxima verosimilitud (“Maximum Likelihood”) (MLE) así como el método del vecino más próximo (“Neighbor-Joining”) (NJ) utilizando el programa MEGA 7.0 (Kumar et al. 2016). Se utilizaron como “outgroups” secuencias de *Claroideoglossus claroideum* (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler, *Corymbiglossus corymbiforme* Błaszcz. & Chwat y *Pacispora scintillans* (S.L. Rose & Trappe) Sieverd. & Oehl ex C. Walker, Vestberg & A. Schüßler.

### 2.9. Variables climáticas

Los datos climáticos se obtuvieron de la Agencia Meteorológica del Estado (AEMET; <http://www.aemet.es>) utilizando la base de datos de las estaciones meteorológicas más cercanas a los lugares de “La Garrofera” (estación ubicada a 39°28′50″N; 00°21′59″W) y “Burguera” (estación ubicada a 38°55′44″N; 00°05′45″W). Para las otras cuatro localidades de muestreo, los datos meteorológicos se obtuvieron de la estación de Sueca (39°12′48″N; 00°18′47″W), por ser la más cercana, proporcionada por la asociación de meteorología valenciana (AVAEMET; <http://www.avamet.org/>). Se utilizaron los datos meteorológicos correspondientes a un mes anterior a la fecha de cada muestreo: 15-Octubre-2014 y del 2015 al 15-Noviembre-2014 y del 2015; 15-Enero-2015 y del 2016 al 15-Febrero-2015 y del 2016; 15-Abril-2015 y del 2016 al 15-Mayo-2015 y del 2016; 15-Julio-2015 y del 2016 al 15-Agosto-2015 y del 2016. Las variables meteorológicas calculadas se muestran en la Tabla suplementaria S1.

### 2.10. Variables de Paisaje

Los cambios de paisaje para el período 1956-2010 en las localidades de muestreo se obtuvieron a partir de ortofotos (ICV, 2017). Este período fue elegido porque en ese momento (1956) todas las localidades tenían ecotono y dunas móviles discernibles. Además, se utilizó Google Earth™ (<https://www.google.com/earth/>) para visualizar los eventos de trabajos de restauración en cada

localidad durante el período 2004-2014. También se midió el ancho del ecotono, de las dunas móviles y de las fijas (hábitat 2210) después de su restauración, así como los restos de los mismos hábitats desde 1956. Finalmente, se midió la longitud del cordón dunar y el ancho de la costa en cada localidad. La presencia / ausencia de raíces de plantas visibles y de “foredunes” >1m en el hábitat 2120 y la floración de las plantas se anotaron en el campo. Todas las variables medidas se muestran en la Tabla suplementaria S1.

### 2.11. Estadística

Para evitar la colinealidad entre las variables climáticas y de paisaje, inicialmente se realizaron pruebas de correlación para reducir el número de variables climáticas y de paisaje. Las variables seleccionadas fueron las que mostraron un valor de correlación de Spearman  $r > 0.7$  o  $< -0.7$ . Tras la selección, las variables paisajísticas fueron categorizadas y los datos sobre la cantidad de raíces finas en el suelo y CE se transformaron ( $\log_{10}(x + 0.0001)$  y  $\log_{10}(x)$ , respectivamente) para reducir los efectos de asimetría y apalancamiento. La lista total de variables utilizadas se indica en la Tabla suplementaria S1.

Los modelos lineales generalizados (GLM) se utilizaron para investigar si el hábitat, las especies vegetales, la localidad de muestreo, la estación, las variables climáticas y paisajísticas, pH, CE y la cantidad de raíces finas en la rizosfera afectaron la frecuencia (según su presencia en cada muestra, utilizando un modelo de respuesta binomial y la función logit-link) y la abundancia relativa (según el número de submuestras por cada muestra, utilizando una distribución de Poisson y una función de enlace log) de las esporas de HMA. Las variables independientes se seleccionaron utilizando el criterio de información de Akaike (AIC) y los modelos se compararon a través de sus diferencias de desviación. Luego, se utilizó un modelo “Zero-Inflated” (ZI) que incluye las variables seleccionadas por cualquiera de los GLM anteriores. El rendimiento del modelo ZI se comparó con el modelo de Poisson utilizando la prueba de Vuong (Vuong, 1989). Las variaciones significativas mostradas por el modelo ZI se analizaron con el Test de Tukey (Tukey, 1953). Todas estas pruebas se llevaron a cabo con R 3.4.1 (R Core Team, 2017).

El análisis multivariante de la comunidad de HMA se realizó utilizando la abundancia relativa de especies de HMA (las variables cuantitativas son más apropiadas para detectar patrones que las variables cualitativas como la frecuencia; Jager y Looman, 1995; Krebs, 1999). El Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) se realizó utilizando la selección directa (con un doble criterio) del mismo conjunto de variables predictoras que las incluidas para la selección en el modelo ZI. Esta ordenación restringida se realizó utilizando el software Canoco v.5 (ter Braak y Šmilauer, 2012), y se

eligió en lugar del RDA (Análisis de redundancia) porque la longitud del gradiente se estimó como  $> 3.5$  SD.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Identificación y descripción de los HMA encontrados

Se identificaron 10 morfotipos en todo el muestreo en base a características morfológicas de sus esporas tales como coloración, tamaño, forma de la hifa portadora, presencia o ausencia de esporocarpos, etc. A partir de los caracteres observados cada morfotipo se clasificó hasta nivel de especie de modo provisional. Se tomaron entre 10-20 esporas de cada morfotipo y se iniciaron los cultivos puros (Fig. 3.1 A-C). Los cultivos llevados a cabo con *Trifolium repens* dieron resultados positivos y se reprodujeron en condiciones de invernadero 5 de los 10 morfotipos. A partir de esporas de material de cultivo puro así como de material de campo (morfotipos no reproducidos en invernadero) se realizó la determinación molecular utilizando parte o toda la secuencia SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU de la región del ADN ribosomal (Fig. 3.2 A). A continuación, se realizaron dos análisis filogenéticos: "Neighbor-Joining" y "Maximum Likelihood" para determinar la posición filogenética de cada morfotipo. Finalmente, a partir de esporas de material de cultivo puro y de campo se realizó la descripción de cada táxon.

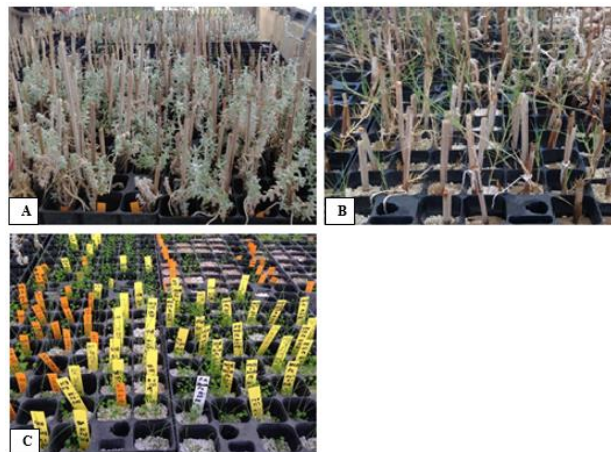


Figura 3.1. Cultivos puros de HMA utilizando como biorreactores esquejes de plantas nativas de ambientes dunares (*O. maritimus* y *S. pungens*; A y B, respectivamente) y plantas no nativas a partir de semillas comerciales (*T. repens* y *A. porrum*; C).



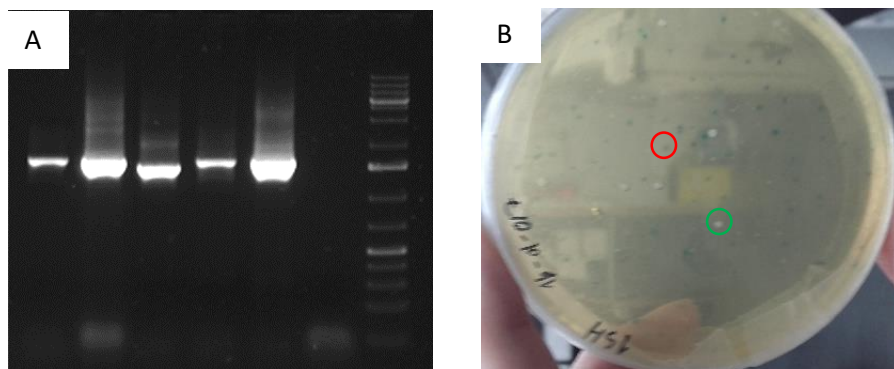


Figura 3.2. A) Productos de PCR 2 de 1500pb en gel de agarosa al 1.2% con Bromuro de etidio (BrEt) y B) placas de LB-agar con X-Gal, IPTG y Kanamicina. Colonias blancas con inserto (verde) y azules sin inserto (rojo).

A continuación, se describen morfológica y molecularmente cada uno de los morfotipos encontrados.

### 3.1.1. Morfotipo 1

*Descripción:* esporas raramente sueltas en el suelo, normalmente en esporocarpos (Fig. 3.3 A). Esporocarpos de 170.1-123.2 x 322.6-375.4  $\mu\text{m}$  ancho x largo con 2-30 esporas de color amarillo brillante, en su madurez, globosas a subglobosas, 57.9-120.4  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$  inmersas en una red de hifas hialinas más o menos laxas de 0.8-2.4  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ . Raramente ovoides o piriformes, normalmente con una hifa portadora (Fig. 3.3 A-D y F).

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared compuesta por 2 láminas (Fig. 3.3 C). Lámina 1, flexible a semiflexible, permanente, hialina a amarillenta, 0.7-2.6  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 2 laminada, lisa, amarilla brillante, 2.5-12.4  $\mu\text{m}$  de grosor. L2 reacciona con PVLG + Reactivo de Melzer (1:1) total o parcialmente volviéndose roja (Fig. 3.3 D-E).

*Hifa portadora* (Fig. 3.3 A-D y F): hialina a amarilla brillante, recta o curvada, cilíndrica o acampanulada, raramente se estrecha en la base de la espóra, 6.5-18.6  $\mu\text{m}$  de grosor.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.3 C y F): amarilla brillante, 1.0-7.3  $\mu\text{m}$  de ancho compuesta por 2 láminas continuas con la pared de la espóra (L1 y L2).

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: Ninguno.

Estructuras simbióticas: No observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.4-5): dentro del mismo clado que *Glomus aggregatum* N.C. Schenck & G.S. Sm. y *Glomus macrocarpum* Tul. & C. Tul.

Distribución en el área de estudio: muy escaso en todas las localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Ausente en dunas embrionarias.

Nomenclatura:

*Glomus ibericum* A. Guillén, J.B. Peris & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *ibericum* hace referencia a que se ha descrito por primera vez en la península ibérica.

Tipo: "La Garrofera" (39°21'26''N; 0°18'55''W), Parque Natural de La Albufera (Valencia, España). Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria*, *O. maritimus* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-01 y FAR-02) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-03,04,05.

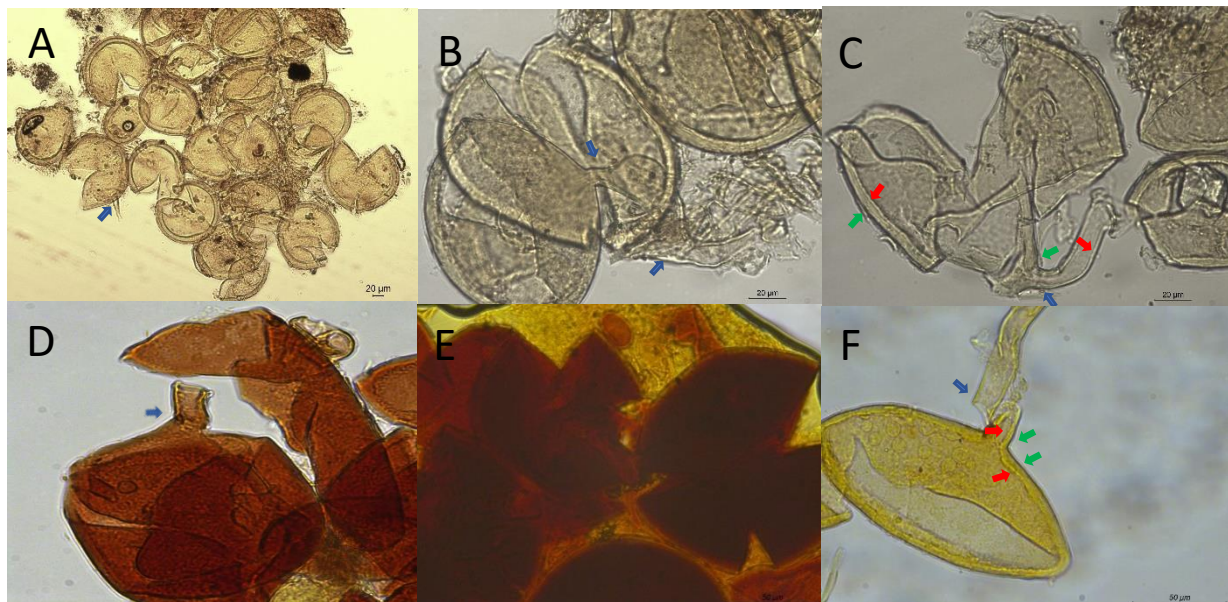


Figura 3.3. Morfotipo 1. A-D y F) Agregado y esporas con hifa portadora señalada por flecha azul; C y F) detalle de láminas 1 (L1) (flecha verde) y 2 (L2) (flecha roja) de la pared esporal y la hifa portadora; D-E) L2 teñida total y parcialmente de rojo con PVLG + Reactivo de Melzer; C, F) L1 (flecha verde) y L2 (flecha roja) de la hifa portadora. Ambas láminas son continuas con la pared de la espora. A-C, F) esporas montadas en PVLG; D-E) esporas montadas en PVLG + Reactivo de Melzer vistas en microscopio óptico.

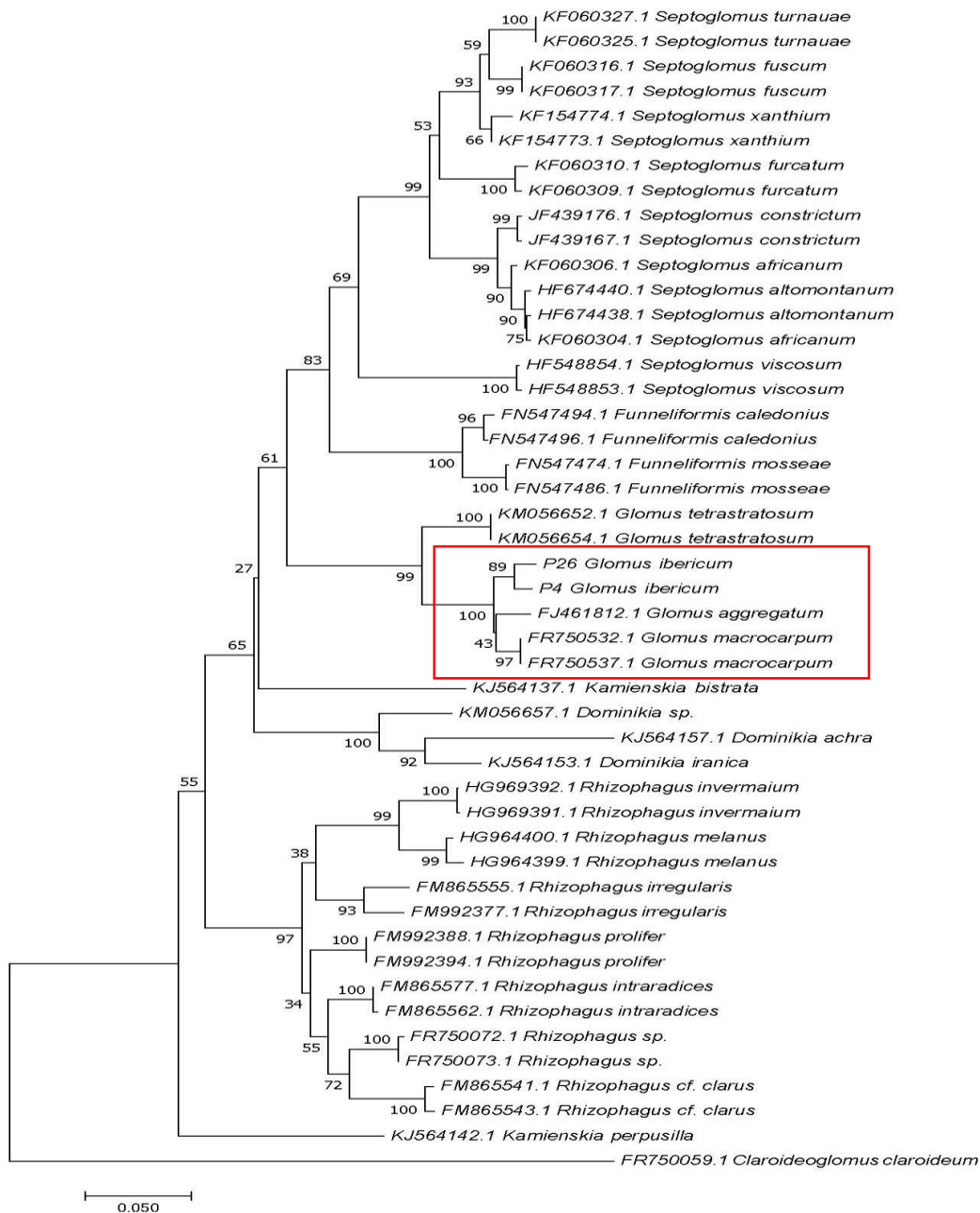


Figura 3.4. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 1 (secuencias P4 y P26). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 47 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Claroideogloium claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

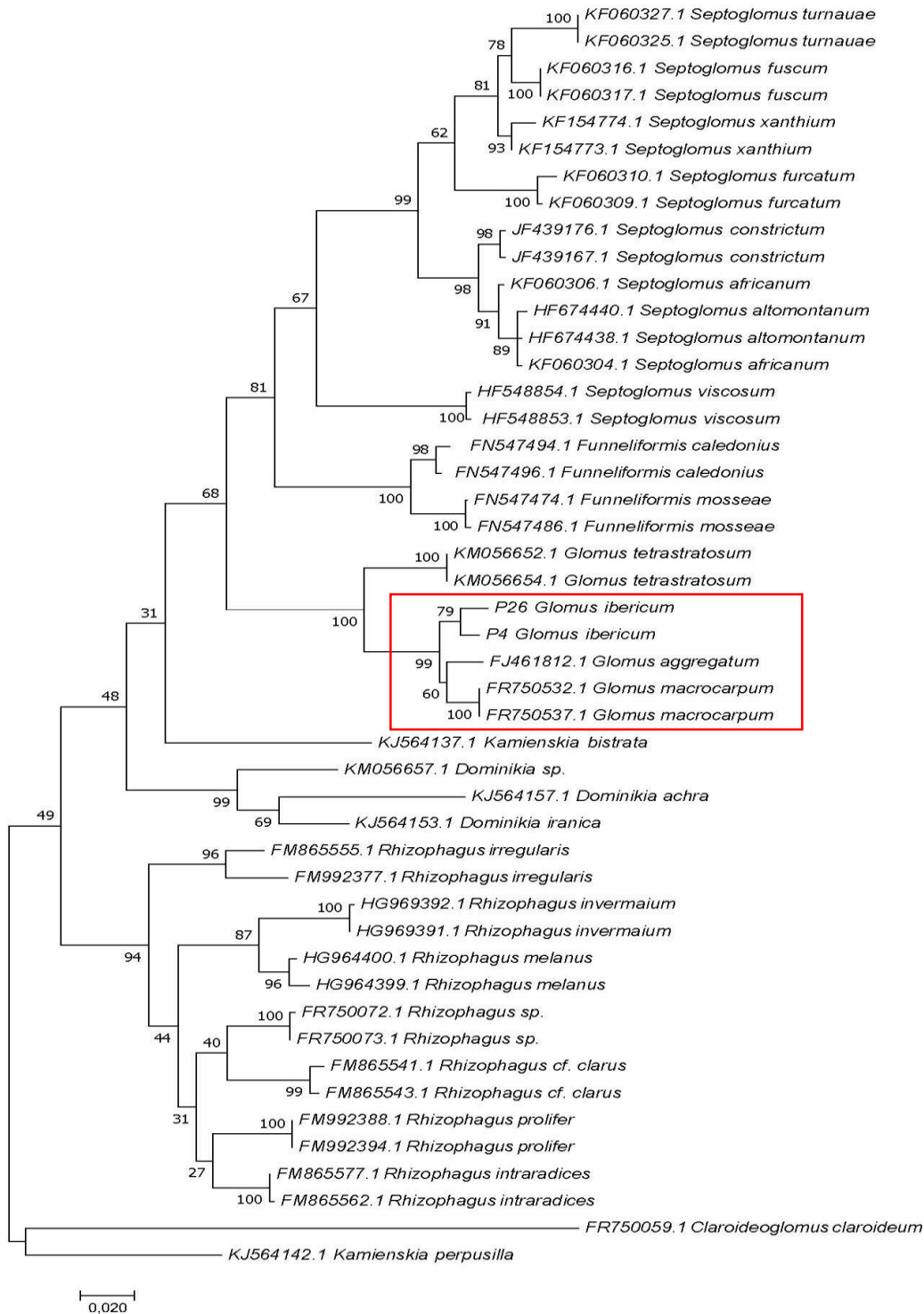


Figura 3.5. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 1 (secuencias P4 y P26). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 47 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Claroideoglomerus claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.2. Morfotipo 2

*Descripción:* esporas normalmente sueltas en el suelo, a veces en esporocarpos hipógeos (Fig. 3.6 A-B). Esporocarpos hipógeos de 213.4-246.9 x 509.1 x 451.2  $\mu\text{m}$  ancho x largo con 1-3 esporas de color anaranjado a marrón oscuro con hifas hialinas de 1.0-1.6  $\mu\text{m}$  de ancho. Estas hifas se forman, mayoritariamente, a partir de la lámina 1 (L1) de la pared esporal (Fig. 3.6 C) y se van superponiendo hasta formar una capa más o menos compacta alrededor de las esporas (Fig. 3.6 D). Esporas aisladas en el suelo o intrarradicales de color anaranjado a marrón oscuro en su madurez, globosas a subglobosas, 111.0-311.0  $\mu\text{m}$  de  $\varnothing$ ; con una hifa portadora (excepcionalmente 2) (Fig. 3.6 E-F).

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared compuesta por 2 láminas (Fig. 3.6 E,G-I). Lámina 1 evanescente, hialina, 1.1-11.5  $\mu\text{m}$  de grosor, normalmente no presente en esporas maduras. Lámina 2 laminada, de color marrón anaranjado a marrón oscuro, 6.1-13.2  $\mu\text{m}$  de grosor. No se ha observado reacción positiva en Reactivo de Melzer de ninguna lámina.

*Hifa portadora* (Fig. 3.6 E y I): marrón anaranjado a marrón oscuro, recta o curvada, normalmente infundibuliforme, 15.3-51.4  $\mu\text{m}$  de ancho en la base de la espora.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.6 I): marrón anaranjado a marrón oscuro, 4.3-16.0  $\mu\text{m}$  de ancho. Pared compuesta por láminas L1 y L2 continuas con el contenido de la espora.

*Germinación* no observada.

Número de cultivos puros obtenidos: 4 utilizando *Trifolium repens*. Se han observado 5-16 esporas/g.

Estructuras simbióticas: hifas intra y extrarradicales, vesículas y arbuscúlos (Fig. 3.7 A-B).

Posición filogenética (Figs. 3.8-9): dentro del mismo clado que *Funneliformis coronatus* (Giovann.) C. Walker & A. Schüßler.

Distribución en el área de estudio: presente en todos los hábitats, localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Es más probable de encontrar en la localidad de "El Perelló" (Sueca, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Funneliformis pillosus* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *pillosus* hace referencia a que las hifas que forman los esporocarpos se forman a partir de la pared esporal, principalmente.



Tipo: "El Perelló" (39°17'11''N; 0°16'49''W), Parque Natural de La Albufera (Sueca, España). Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-06 y FAR-07) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-08,09,10.

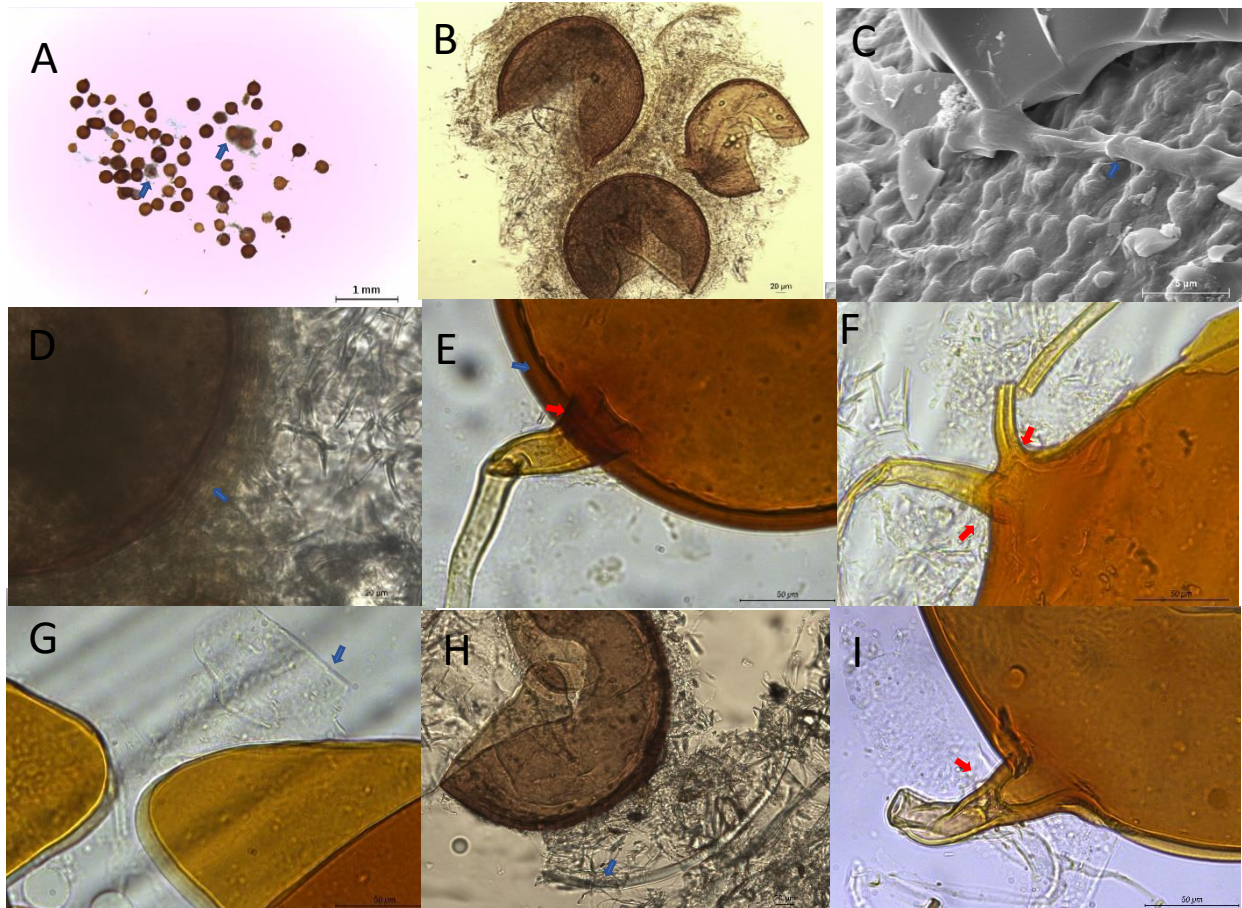


Figura 3.6. Morfotipo 2. A) Esporas libres y esporocarpos (flecha azul); B) esporocarpo; C) hifa formada a partir de la lámina 1 de la pared esporal (L1) (flecha azul); D) espora en esporocarpo rodeada de una capa densa de hifas (flecha azul); E) Lámina 2 de la pared esporal (L2) (flecha azul) e hifa portadora (flecha roja); F) espora con 2 hifas portadoras (flechas rojas); G-H) L1 (flecha azul); I) pared de la hifa portadora (flecha roja). A) esporas en agua estéril vistas bajo estereoscopio; B, D-I) montadas en PVLG vistas en microscopio óptico; C) fotografía de microscopio electrónico de barrido (ME).

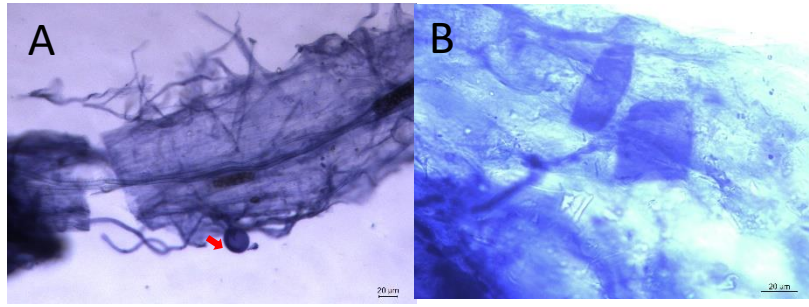


Figura 3.7. Morfotipo 2. A) Hifas extra e intrarradicales y vesícula (flecha roja); B) arbusculos montados en PVLG y vistos en microscopio óptico.

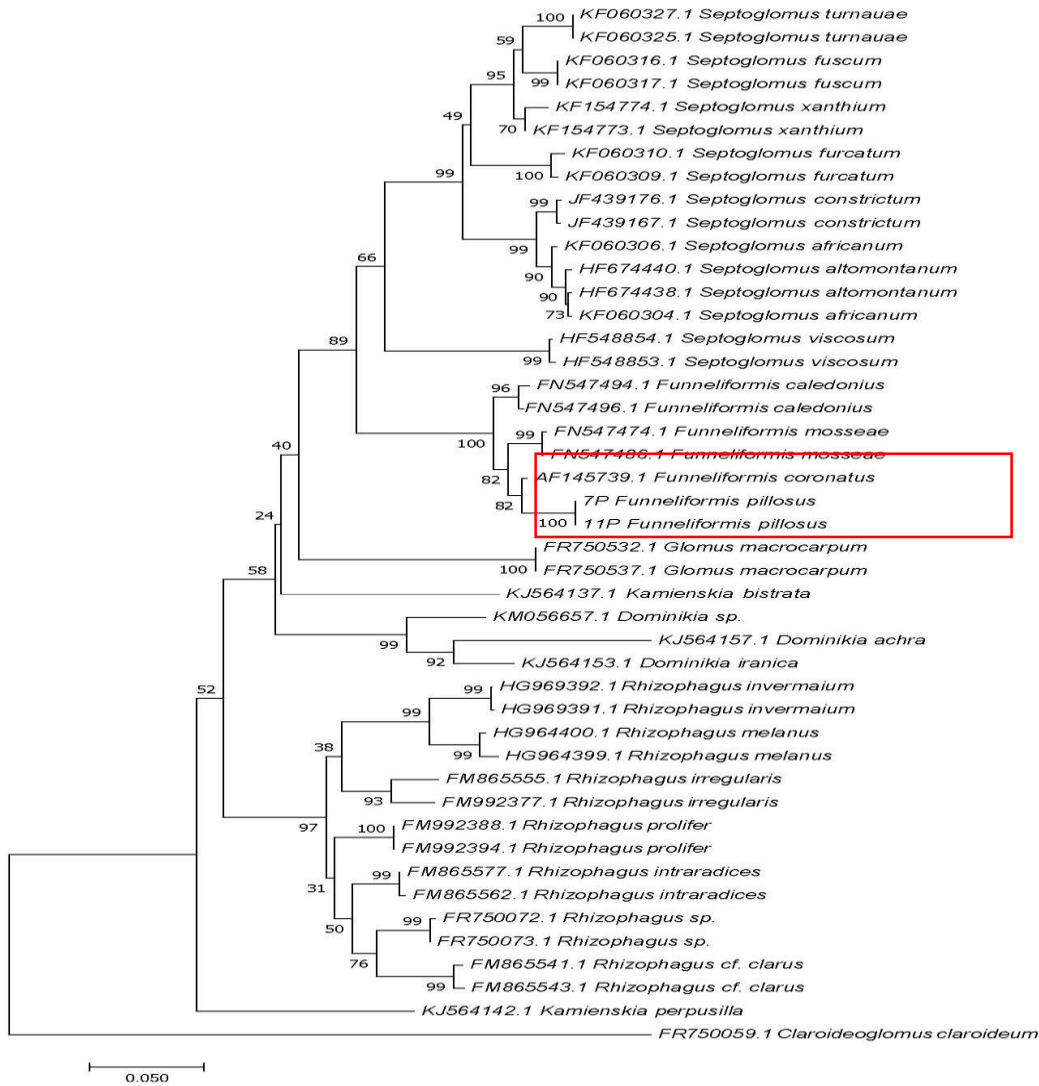


Figura 3.8. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 2 (secuencias 7P y 11P). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 45 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Claroideoglomus claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

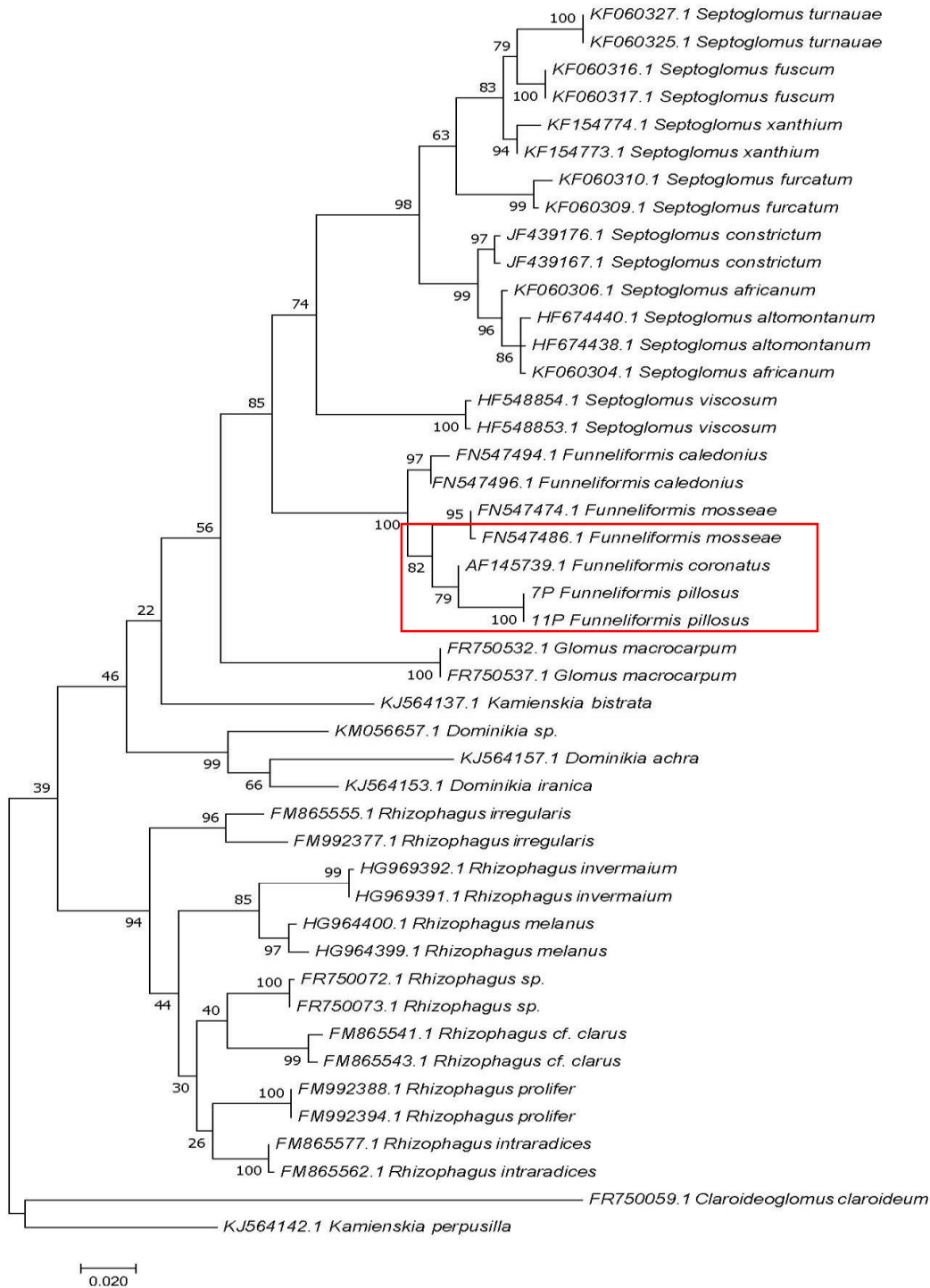


Figura 3.9. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 2 (secuencias 7P y 11P). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 45 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Claroideoglomerus claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.



### 3.1.3. Morfotipo 3

*Descripción:* esporas (Fig. 3.10 A) solitarias, raramente en agregados laxos en el suelo, rojas claras a negras con reflejos rojizos, globosas a subglobosas, 97.6-185.2  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ , a veces ovoides, normalmente con una hifa portadora.

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared compuesta por 3 láminas (Fig. 3.10 B-F). Lámina 1 evanescente, semipermanente, hialina a amarilla cuando las esporas son muy viejas (excepcional), 0.8-6.6  $\mu\text{m}$  de grosor, normalmente presente en todas las esporas independientemente de la edad. Lámina 2 laminada, lisa, roja clara a negra con reflejos rojizos, 7.4-22.3  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 lisa, semiflexible, adherida a la L2, de color roja clara a negra con reflejos rojizos, 0.7-2.4  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 1, 2 y 3 no reaccionan con el reactivo de Melzer.

*Hifa portadora* (Fig. 3.10 E-F): roja clara a negra con reflejos rojizos, normalmente retrorsa y con un estrechamiento en la base de la espora, 5.5-29.4  $\mu\text{m}$  de ancha en la constricción de la base de la espora; 6.3-29.3  $\mu\text{m}$  de ancha en la zona inmediatamente posterior de la constricción, donde la hifa portadora está hinchada.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.10 F): roja clara a negra con reflejos rojizos, 2.7-7.9  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espora, compuesta por 2 láminas continuas con las láminas de la pared de la espora (L1 y L2).

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: 1 utilizando *Trifolium repens*. Se han observado 20 esporas/g.

Estructuras simbióticas: hifas extra e intraradicales, vesículas y arbuscúlos (Fig. 3.11 A-C).

Posición filogenética (Figs. 3.12-13): Dentro del mismo clado que *Septoglo mus jasnowskae* Błaszcz., Chwat & Ryszka.

Distribución en el área de estudio: presente en todos los hábitats, localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Es más probable de encontrar en la localidad de "La Garrofera" (El Saler, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Septoglo mus mediterraneum* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris & Arrillaga, l., sp. nov.

Etimología: *mediterraneum* se refiere a que ha sido descrito en la costa del mar mediterráneo.

Tipo: "La Garrofera" (39°21'26''N; 0°18'55''W), Parque Natural de La Albufera (Valencia, España). Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria*, *O. maritimus* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-07 y FAR-08) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-09,10,11.

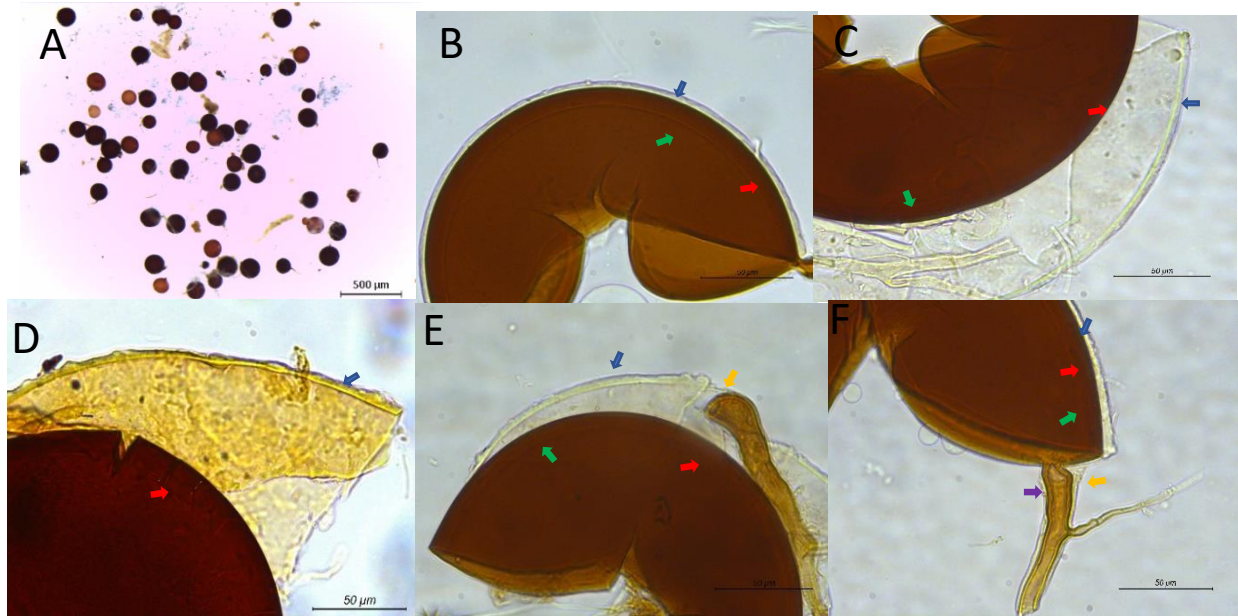


Figura 3.10. Morfotipo 3. A) Esporas; B, C, E, F) Lámina 1 (L1) adherida y desprendida (flechas azules); B-F) lámina 2 (L2) (flecha roja) y Lámina 3 (flecha verde) de la pared esporal; E-F) hifa portadora (flecha morada) mostrando su pared (flecha naranja) con un estrechamiento en la base de la espora. A) esporas en agua estéril vistas bajo estereoscopio; B-F) esporas montadas en PVLG vistas en microscopio óptico.

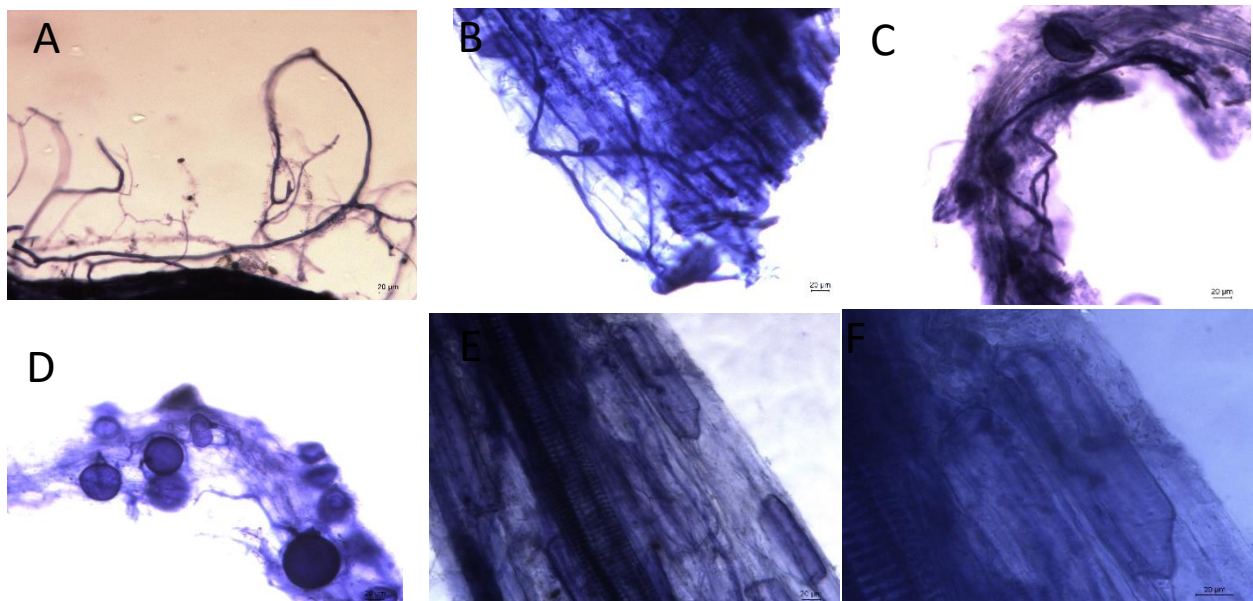


Figura 3.11. Morfotipo 3. A-C) Hifas extra e intraradicales; C-D) vesículas; E-F) y arbusculos montados en PVLG y vistos en microscopio óptico.

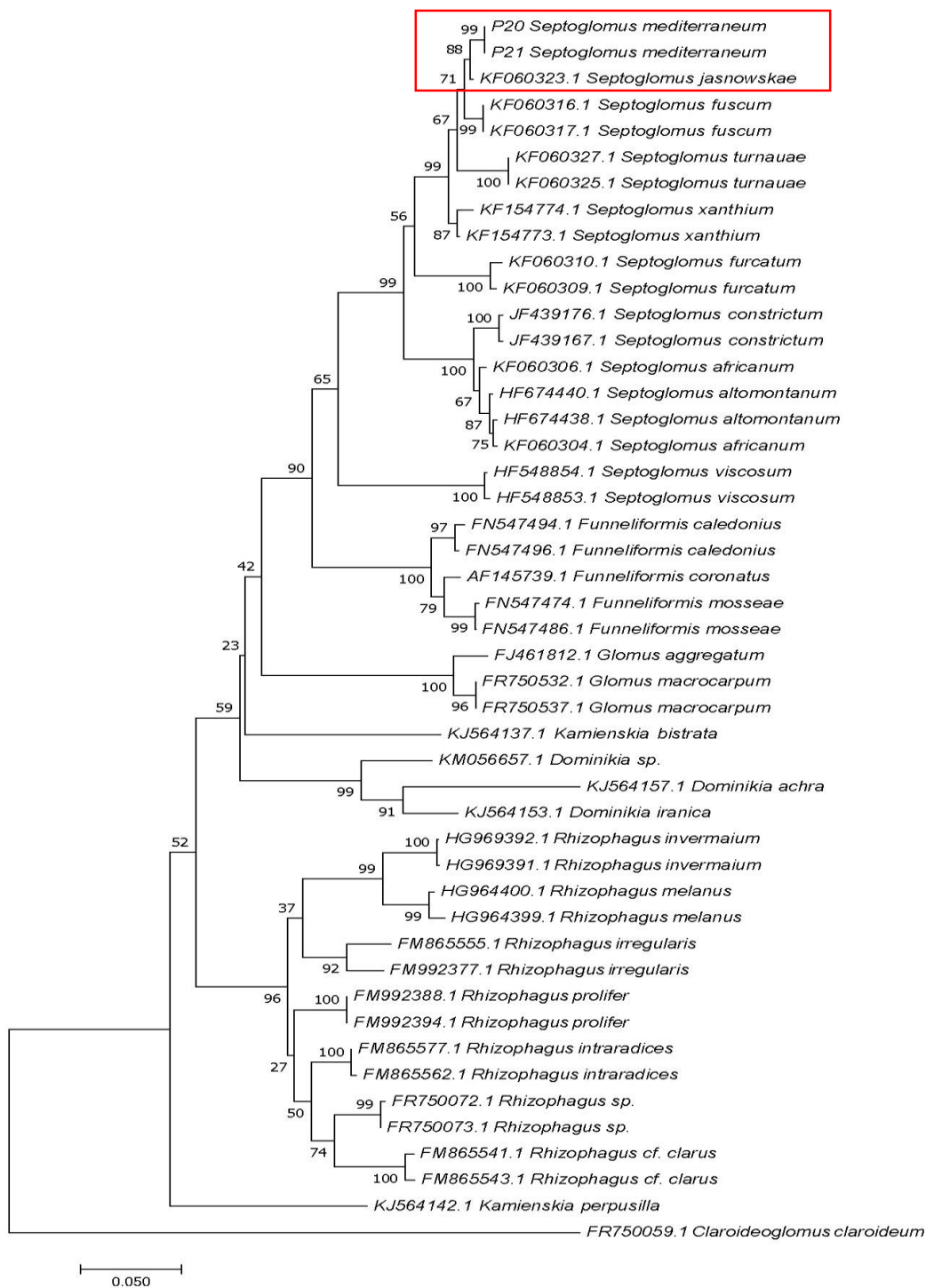


Figura 3.12. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 3 (secuencias P20 y P21). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 47 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Claroideogломus claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

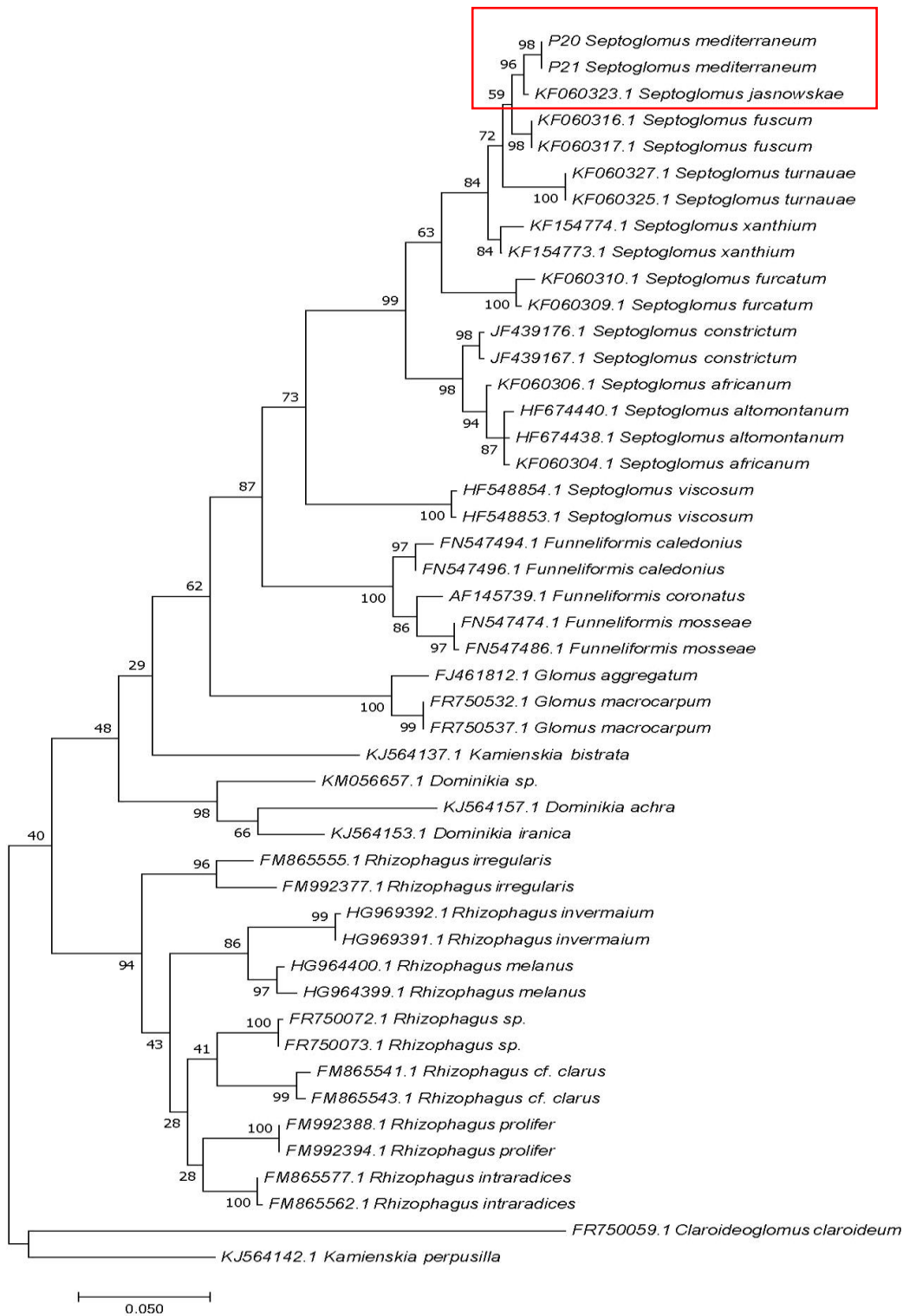


Figura 3.13. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 3 (secuencias P20 y P21). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 47 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Claroideogloium claroideum* y *Kamienskia perpusilla* como “outgroups”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

#### 3.1.4. Morfotipo 4

*Descripción:* agregados de 2-10 esporas (Fig. 3.14 A-B) de 202.6-455.3  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ . De color hialino cuando son jóvenes con esporas rodeadas por una túnica de hifas hialinas, 1.0-2.2  $\mu\text{m}$  de ancho; naranja-rojizo cuando son maduros sin túnica aparente. Los agregados están formados por una hifa que se ramifica dicotómicamente en 2 esporóforos que, habitualmente, se ramifican para dar lugar a hifas portadoras (Fig. 3.14 C-D). Esporas (Fig. 3.14 A-C) normalmente en los agregados, globosas a subglobosas, de color naranja a rojizo, 76.2-204.4  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ .

*Estructuras subcelulares de las esporas:* una pared compuesta por 3 láminas (Fig. 3.14 E-F). Lámina 1 semi-rígida, semipermanente, lisa o ligeramente rugosa, hialina a amarillenta en esporas muy viejas, 0.7-2.5  $\mu\text{m}$  de grosor. Se encuentra estrechamente unida a la lámina 2. Lámina 2, naranja-rojiza en ejemplares maduros, 6.4-17.1  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 semiflexible, hialina, 0.9-3.0  $\mu\text{m}$  de grosor., normalmente adherida a la lámina 2.

*Hifa portadora* (Fig. 3.14 C-D): hialina a anaranjada, recta o curvada, 18.4-46.0  $\mu\text{m}$  de ancho en la base de la espora.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.14 D): hialina a anaranjada, 2.6-7.6  $\mu\text{m}$  de ancho, compuesta por dos paredes continuas con las láminas 1 y 2 de la pared de las esporas.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: 1 utilizando *Trifolium repens*. Esporulación escasa aunque presente, menos de 5 agregados/g.

Estructuras simbióticas: hifas extra e intrarradicales (Fig. 3.15). Vesículas y arbuscúlos no observados.

Posición filogenética (Figs. 3.16-17): dentro del mismo clado que *Corymbiglomus corymbiforme* Błaszk. & Chwat.

Distribución en el área de estudio: presente en todos los hábitats, localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Es más probable de encontrar en la localidad de "Les Palmeres" (Sueca, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Corymbiglomus corymbiforme* Błaszk. & Chwat, Acta Mycologica, Warszawa 48(1): 99 (2013)

=*Glomus corymbiforme* Błaszk., Mycologia 87(5): 732 (1995)



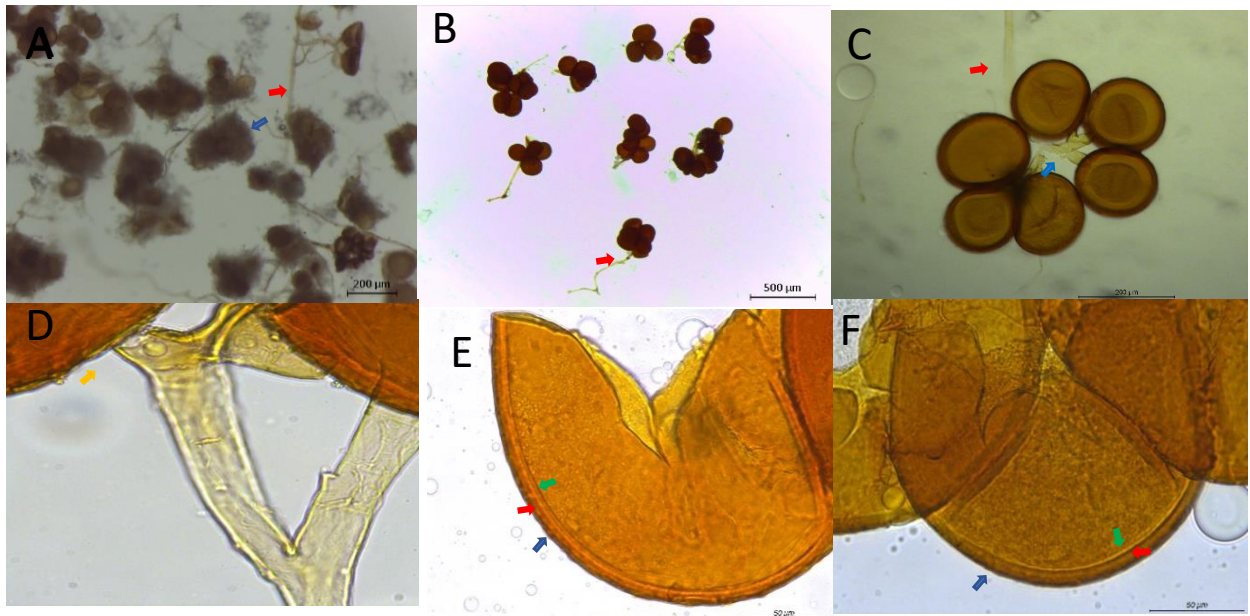


Figura 3.14. Morfotipo 4. A) Agregados juveniles y B) maduros. Esporóforos señalados con una flecha roja y túnica por flecha azul; C-D) detalle de un agregado maduro. Hifas portadoras señaladas por flecha azul. Pared de la hifa portadora señalada por flecha naranja; E-F) Lámina 1, 2 y 3 (L1-L2-L3) señalan en flechas azules, rojas y verdes, respectivamente. A-B) esporas en agua estéril vistas bajo estereoscopio; C-F) montadas en PVLG vistas en microscopio óptico.

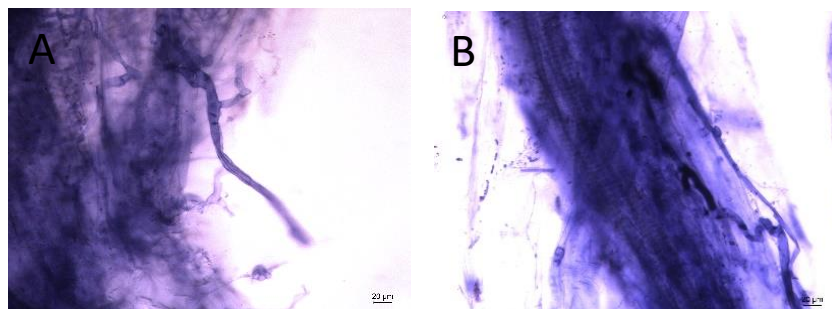


Figura 3.15. Morfotipo 4. A-B) Hifas extra e intraradicales montadas en PVLG vistas en microscopio óptico.

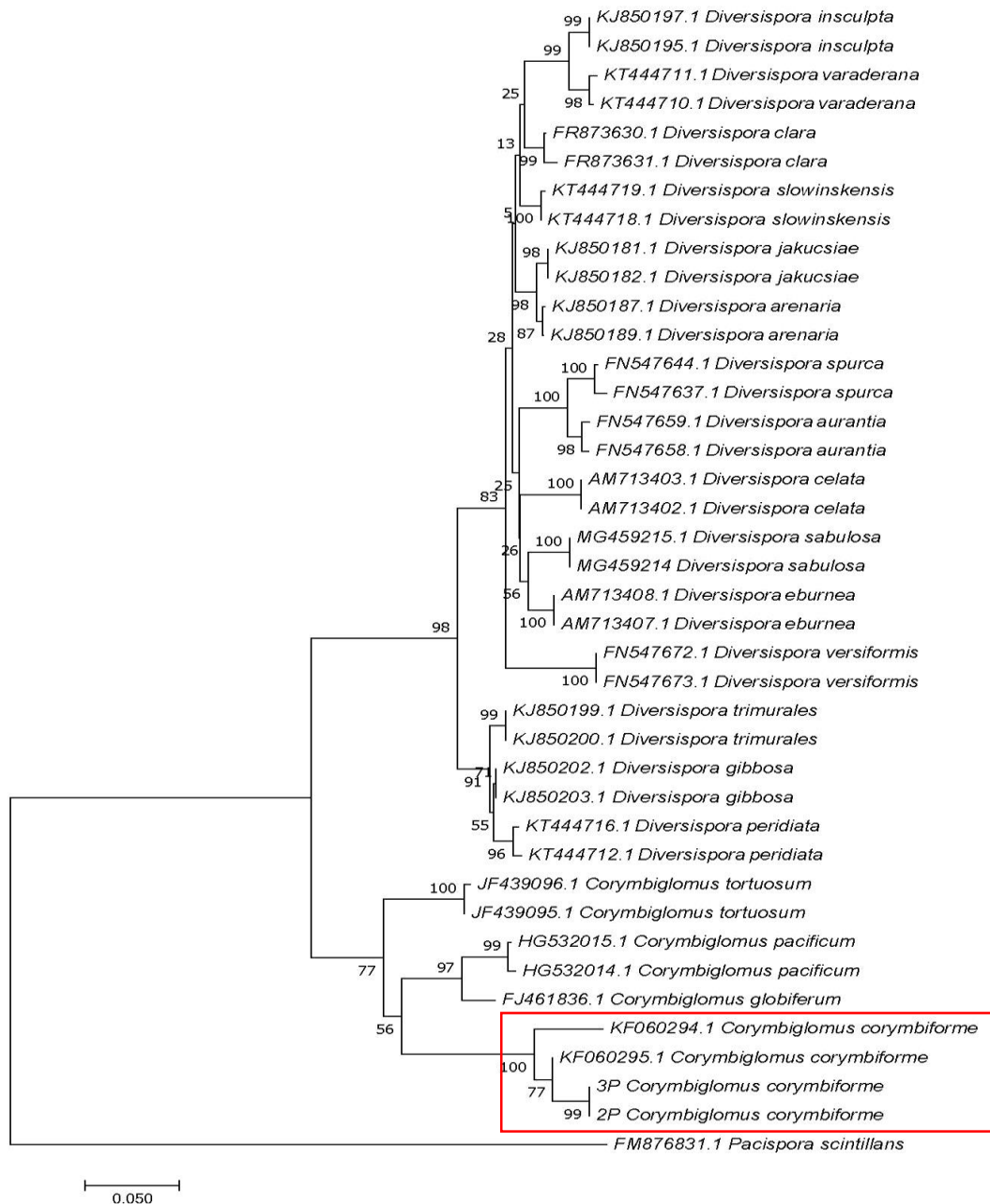


Figura 3.16. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 40 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 4 (secuencias 2P y 3P). El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

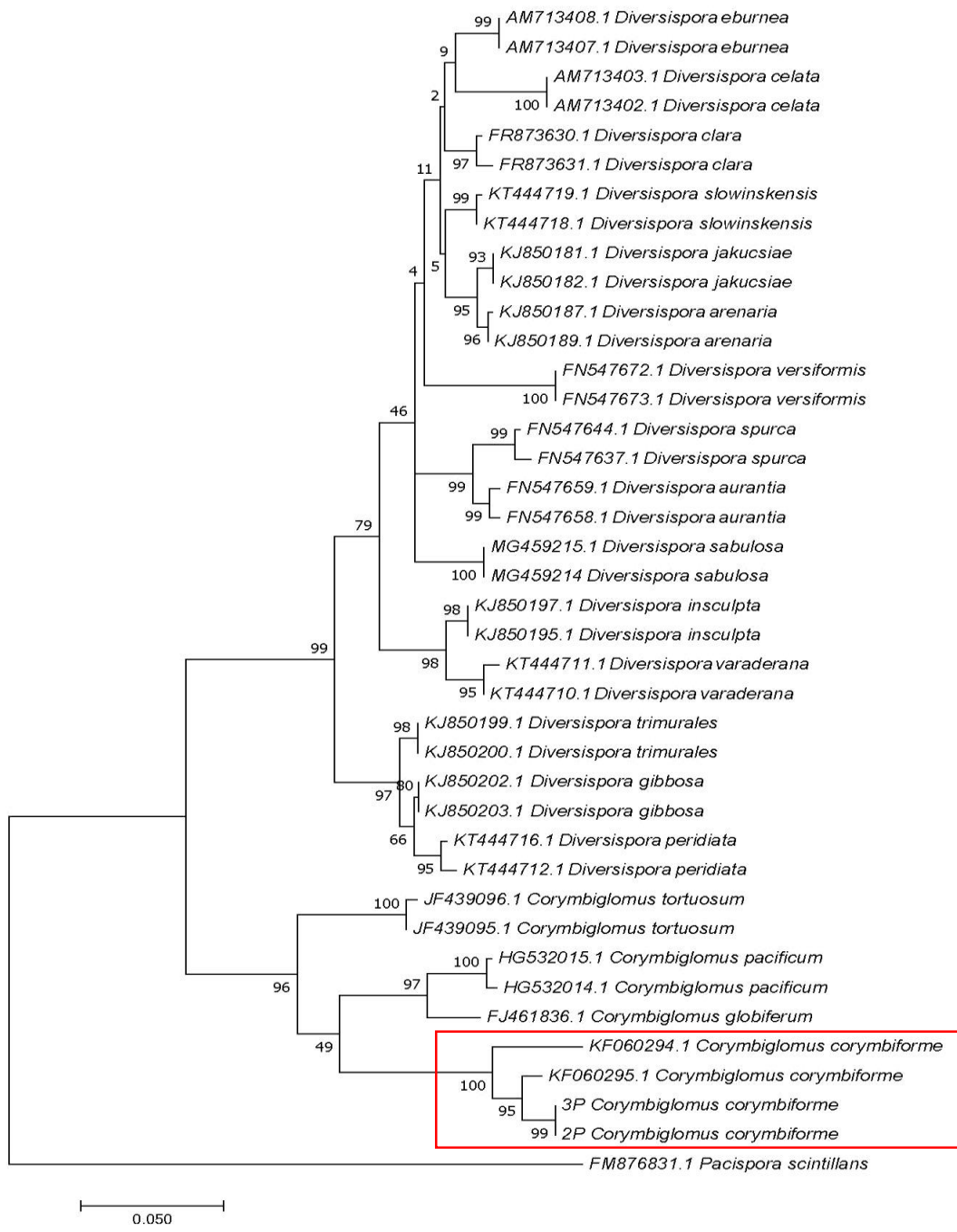


Figura 3.17. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 40 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 4 (secuencias 2P y 3P). El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.



### 3.1.5. Morfotipo 5

*Descripción:* esporocarpos hipógeos (Fig. 3.18 A-B) 102.0 x 84.1-565.4 x 562.5  $\mu\text{m}$  de ancho x largo, contando desde 2 hasta más de 100 esporas distribuidas al azar con un peridio en las fases más desarrolladas que engloba parcial o totalmente a las esporas. Esporocarpos compuestos por hifas laxas o compactas entrelazadas, rectas o curvas, hialinas, 1.3-3.1  $\mu\text{m}$  de ancho. Esporas endocárpicas (Fig. 3.18 A-B) de color marrón café en la madurez, globosas a subglobosas, 22.9-77.4  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ ; esporas ectocárpicas (Fig. 3.18 A) originadas de forma libre en el suelo, intrarradicalmente y ocasionalmente en agregados laxos. De color marrón café en su madurez, globosas a subglobosas, 62.3-127.0  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ .

*Estructuras subceculares de las esporas:* una pared compuesta por 3 láminas (Fig. 3.18 C-D). Lámina 1 permanente, laminada, marrón café en su madurez, uniforme, 1.4-4.0. Lámina 2 permanente, laminada, lisa, naranja clara en su madurez, 3.1-7.4  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 semiflexible, hialina, 0.7-1.6  $\mu\text{m}$  de grosor, normalmente adherida a la lámina 2. Lámina 1, 2 y 3 no se tiñen con el reactivo de Melzer.

*Hifa portadora* (Fig. 3.18 E-F): hialina o naranja clara cerca de la espора, cuando se aleja hialina. Recta o curva, cilíndrica normalmente y, excepcionalmente, infundibuliforme, a veces se estrecha en la base, 5.0-20.0  $\mu\text{m}$  de ancho.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.18 E-F): hialina a naranja clara cerca de la base de la espора, cuando se aleja hialina; 1.0-5.0  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espора; continua con la lámina 1 o también con la lámina 2.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: 3 utilizando *Trifolium repens*. 12-20 esporas/g.

Estructuras simbióticas: hifas extra e intraradicales, vesículas y arbuscúlos (Fig. 3.19 A-F).

Posición filogenética (Figs. 3.20-21): desconocida aunque está relacionada con *Diversispora jakucisiae* Błaszcz., T.K. Balázs & Kovács, *D. arenaria* (Błaszcz., Tadych & Madej) Oehl, G.A. Silva & Sieverd., *D. slowinskiensis* Błaszcz., Chwat, Kovács & Góralaska., *D. eburnea* (L.J. Kenn., J.C. Stutz & J.B. Morton) C. Walker & A. Schüßler, *D. celata* C. Walker, Gamper & A. Schüßler, *D. sabulosa* Błaszcz. & Kozłowska, *D. spurca* (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüßler, *D. arenaria* (Błaszcz., Tadych & Madej) Oehl, G.A. Silva & Sieverd., *D. clara* Oehl, B. Estrada, G.A. Silva & Palenz., *D. insculpta* (Błaszcz.) Oehl, G.A. Silva & Sieverd., *D. aurantia* (Błaszcz., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler, *D. varaderana* Błaszcz., Chwat, Kovács & Góralaska y *D. versiformis* (P. Karst.) Oehl, G.A. Silva & Sieverd.

Distribución en el área de estudio: presente en todos los hábitats, localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Es más probable de encontrar en las localidades de “Sant Antoni” (Cullera, Valencia, España) y “Burguera” (Oliva, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Diversispora valentina* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris, & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *valentina* se refiere a que se ha identificado por primera vez en la provincia de Valencia, España.

Tipo: “Burguera” (38°56′00″N; 0°05′50″W), Oliva, España. Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-12 y FAR-13) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-14,15,16.

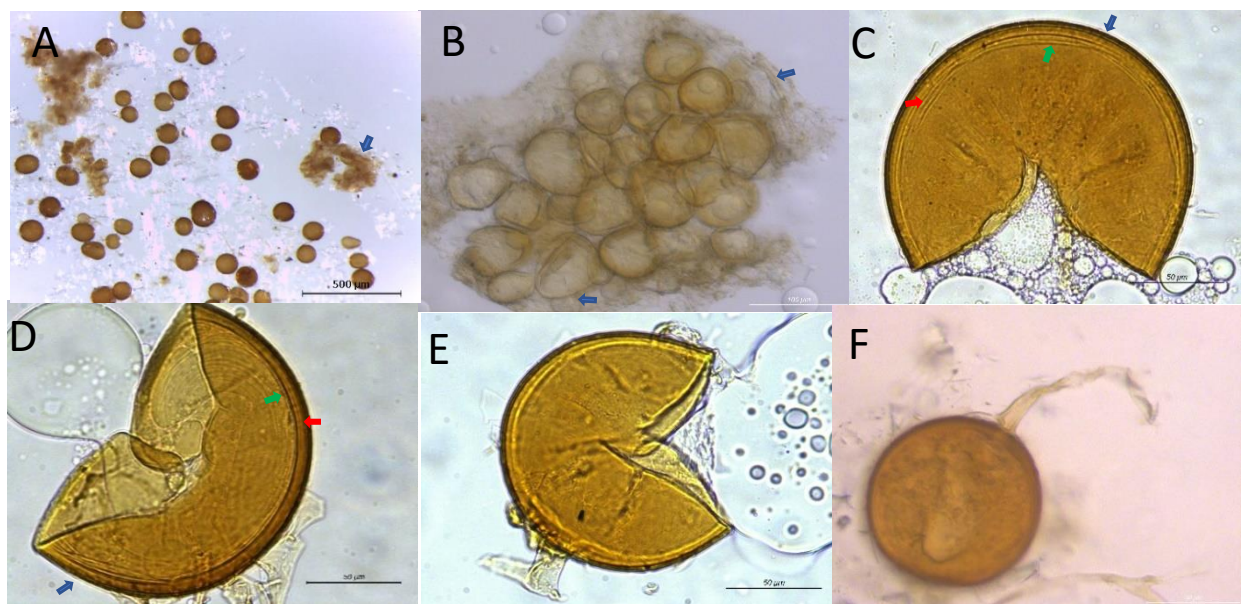


Figura 3.18. Morfotipo 5. A) Esporocarpos (flecha azul) y esporas; B) esporocarpio; C-D) Lámina 1, 2 y 3 (L1-L2-L3) (C-D) (flechas azules, rojas y verdes, respectivamente); (E-F) hifa portadora donde puede verse la pared. A) esporas en agua estéril vistas bajo estereoscopio; B-F) montadas en PVLG vistas en microscopio óptico.

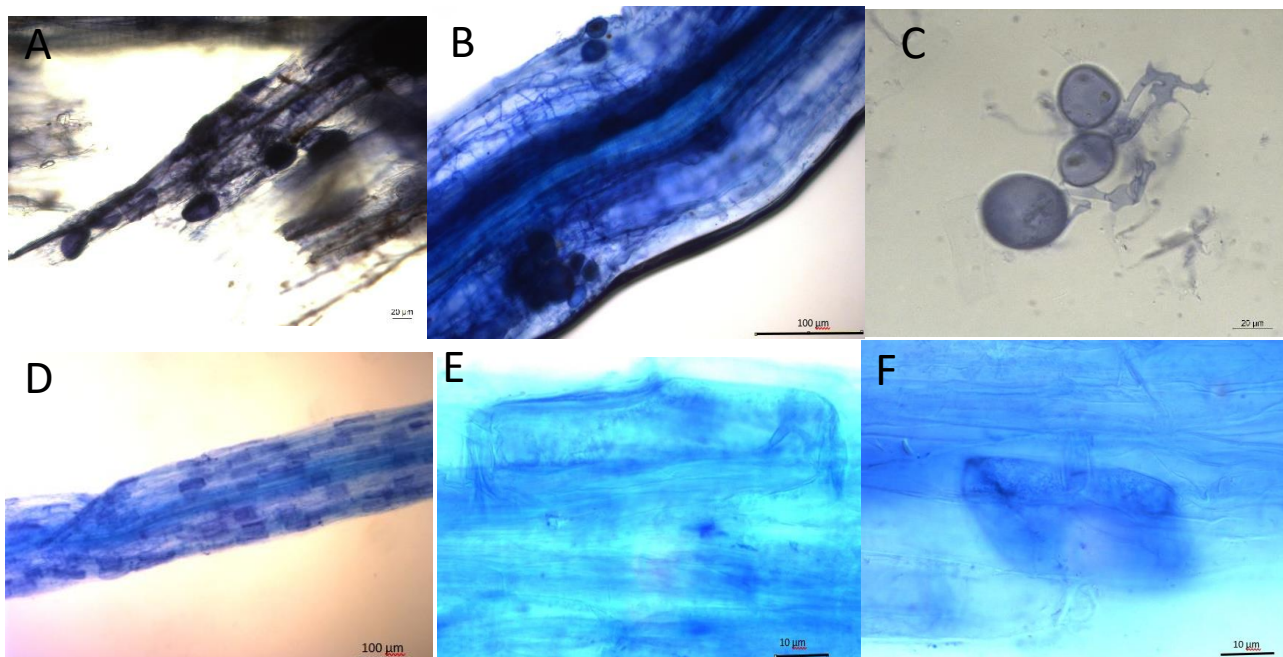


Figura 3.19. Morfotipo 5. A-C) Hifas y vesículas; y D-F) arbusculos montados en PVLG.

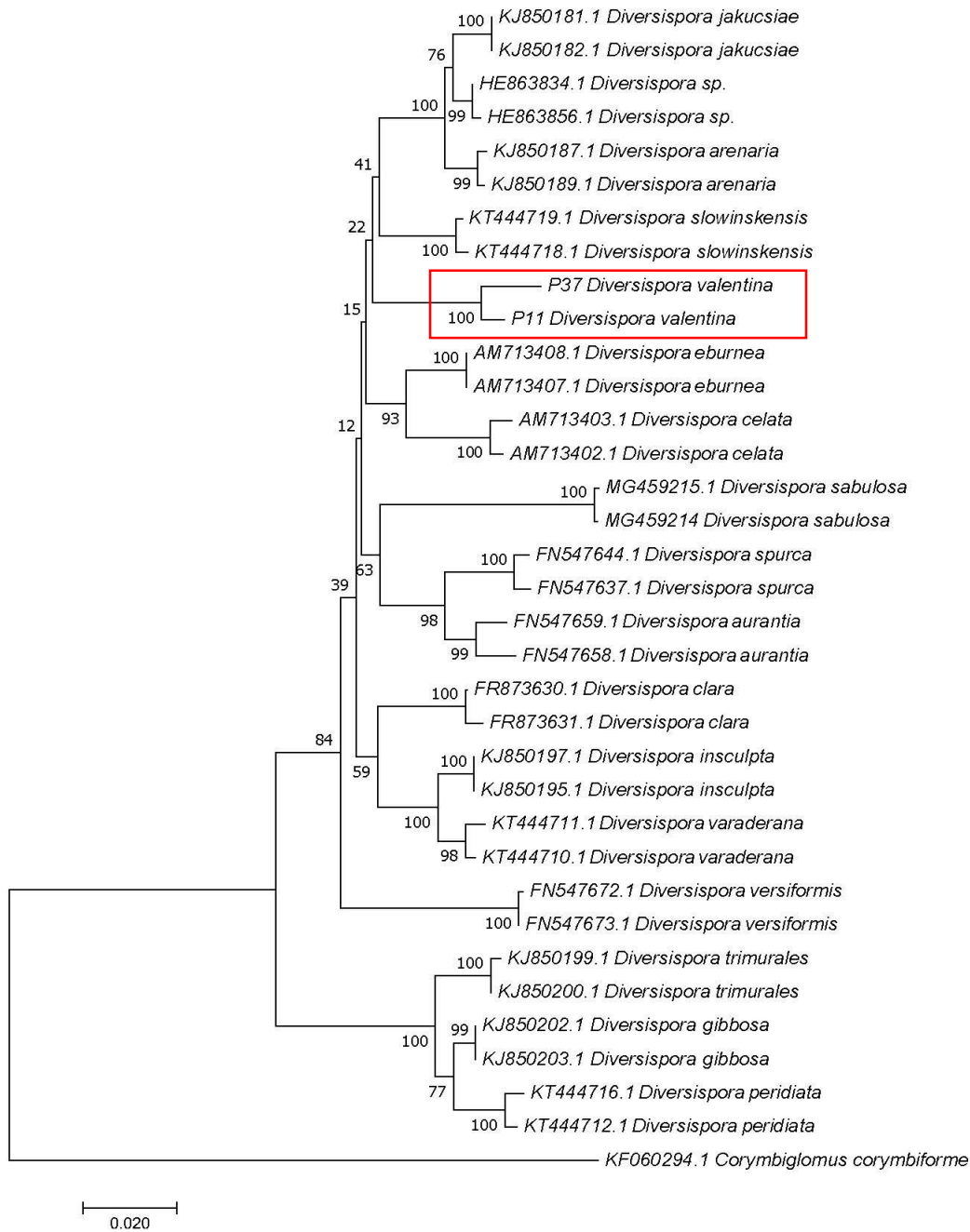


Figura 3.20. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 5 (secuencias P11 y P37). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 35 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Corymbioglomus corymbiforme* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

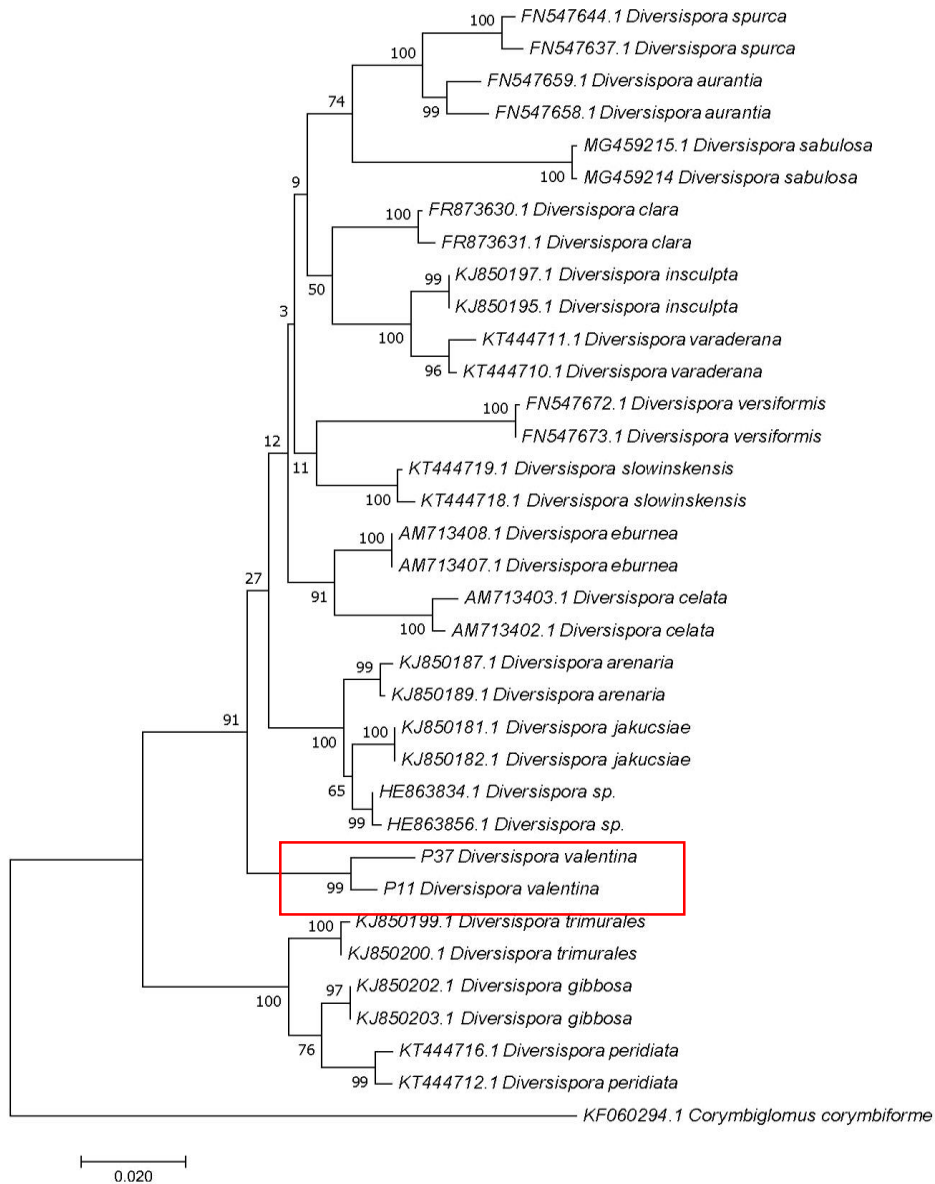


Figura 3.21. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 5 (secuencias P11 y P37). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 35 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Corymbioglomus corymbiforme* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.6. Morfotipo 6

*Descripción:* esporas (Fig. 3.22 A) amarillo brillante en su madurez. Mayoritariamente globosas a subglobosas, 80.2-119.6  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ .

*Estructuras subcelulares de las esporas:* una pared con 3 láminas (Fig. 3.22 B-E). Lámina 1 flexible a semiflexible, permanente, lisa, hialina, 0.8-1.8  $\mu\text{m}$  de grosor. Se suele acumular material granular sobre la L1. Lámina 2 laminada, lisa, amarilla-hialina a amarilla brillante en su madurez, 3.3-11.1  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 flexible a semiflexible, lisa, hialina, 0.6-1.5  $\mu\text{m}$  de grosor, normalmente adherida a la lámina 2 y casi siempre adherida de forma inseparable de la superficie interna de la lámina 2 de la hifa portadora. Ninguna pared de las esporas reacciona con el reactivo de Melzer.

*Hifa portadora* (Fig. 3.22 E): difícil de observar tanto en esporas de campo como de cultivo puro. Suele ser hialina o amarilla brillante en especímenes maduros, recta o curvada, cilíndrica o ligeramente acampanada, raramente se estrecha en la base de la espora, 5.3-8.6  $\mu\text{m}$  de ancho.

*Pared de la hifa portadora* (Fig. 3.22 E): hialina o amarilla brillante, continua con las láminas 1 y 2, yendo de 1.2-2.0  $\mu\text{m}$  de grosor.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: 3 utilizando *Trifolium repens*. 8-20 esporas/g

Estructuras simbióticas: no observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.23-24): dentro del mismo clado que *Diversispora aurantia* (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler y *D. spurca* (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüßler.

Distribución en el área de estudio: presente en todos los hábitats, localidades, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Distribuida ampliamente en todas las localidades a excepción de "Les Palmeres" (Sueca, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Diversispora aurantia* (Błaszk., Blanke, Renker & Buscot) C. Walker & A. Schüßler, The Glomeromycota, A Species List With New Families and New Genera: 43 (2010)

=*Glomus aurantium* Błaszk., Blanke, Renker & Buscot, (2004)



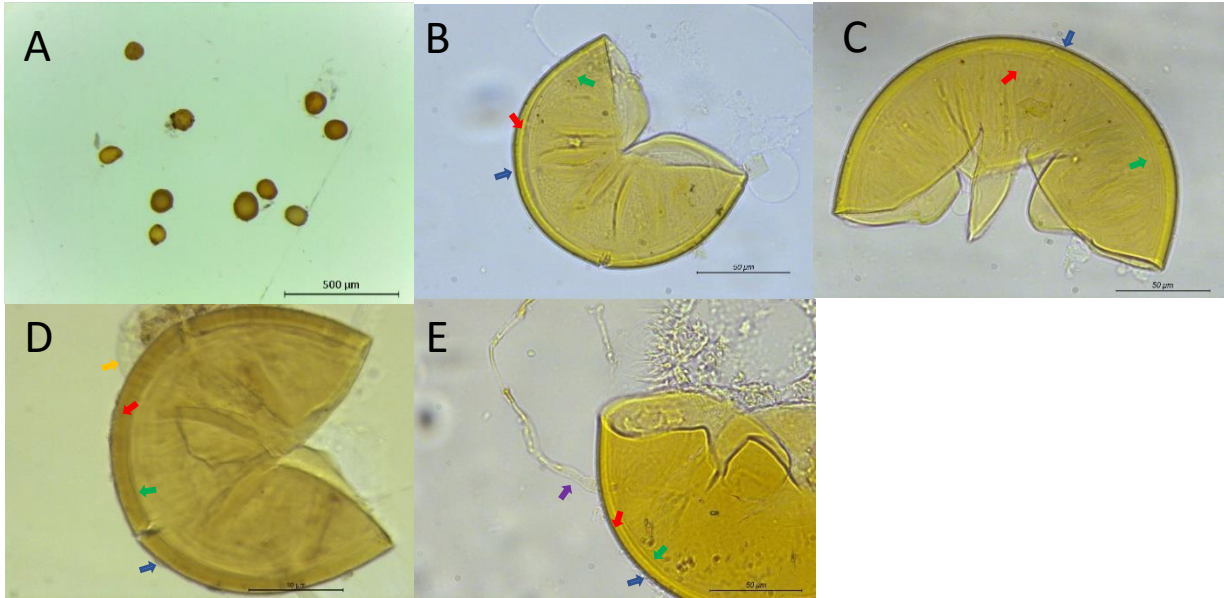


Figura 3.22. Morfotipo 6. A) Esporas libres; B-E) Lámina 1, 2 y 3 (L1-L2-L3) (flechas azules, rojas y verdes, respectivamente); D) acúmulo de material granular sobre L1 (flecha naranja); E) hifa portadora (flecha morada) junto con su pared. A) esporas en agua estéril vistas bajo estereoscopio; B-E) montadas en PVLG vistas en microscopio óptico.

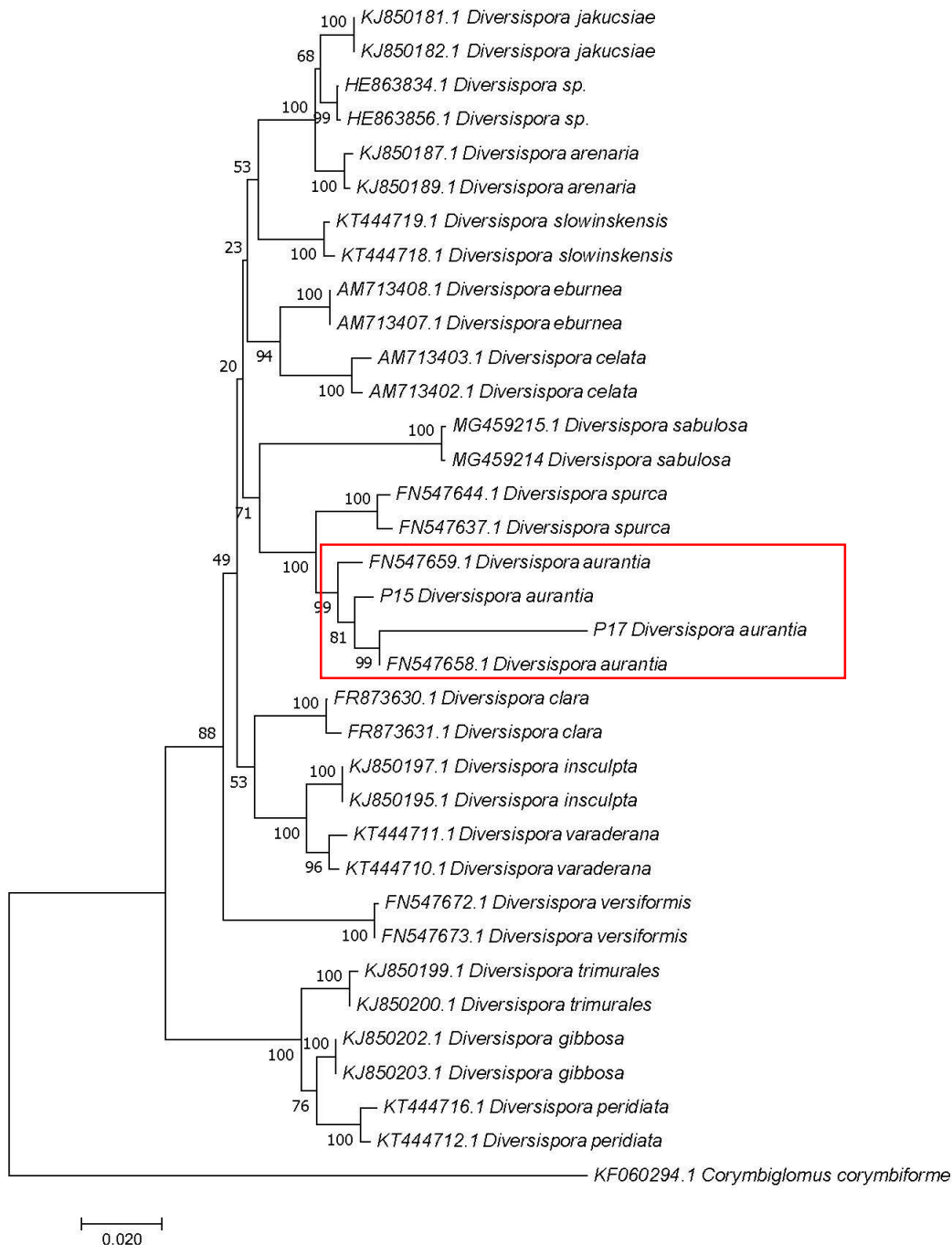


Figura 3.23. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 6 (secuencias P15 y P17). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 35 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Corymbioglomus corymbiforme* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.



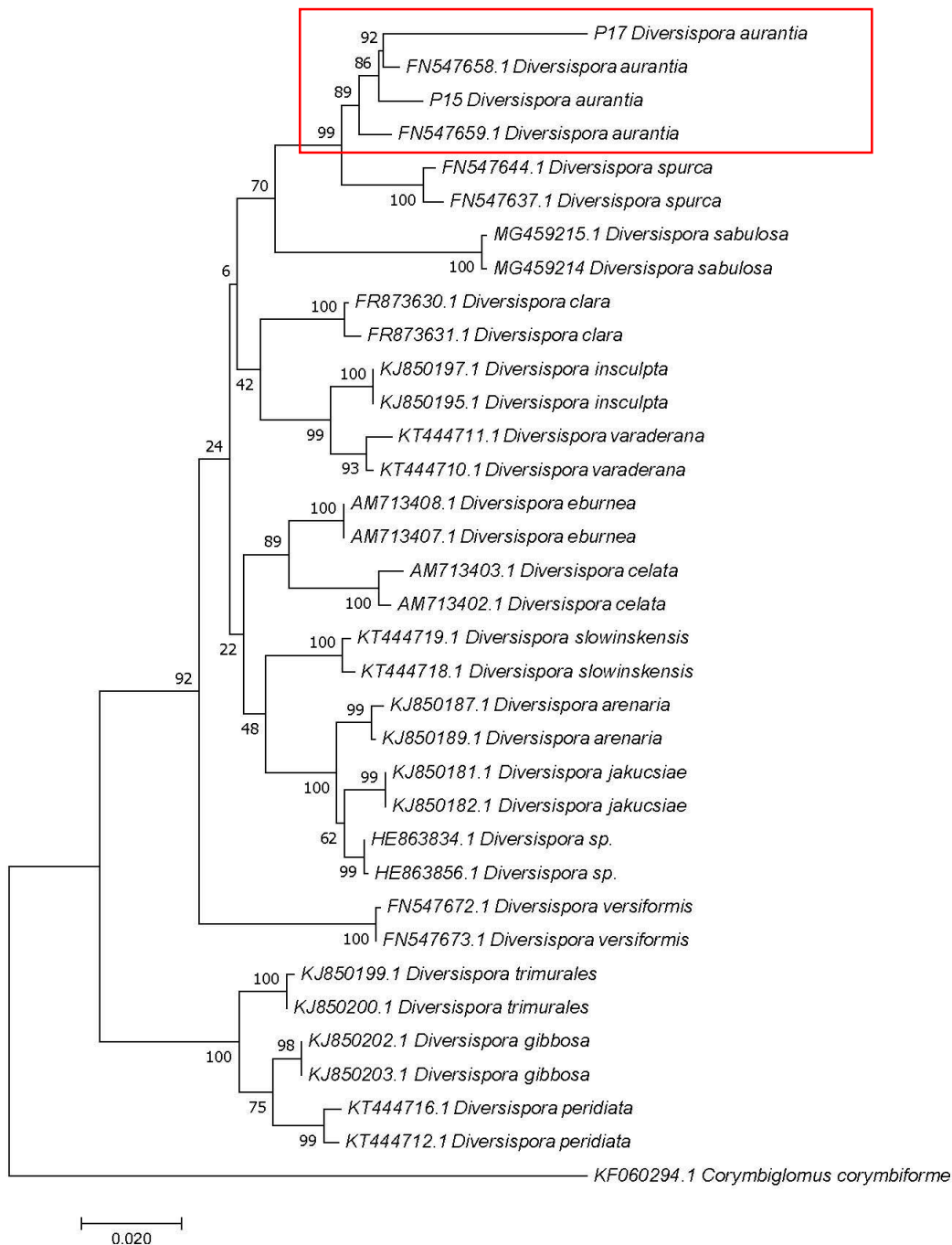


Figura 3.24. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 6 (secuencias P15 y P17). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 35 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Corymbiglomus corymbiforme* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.7. Morfotipo 7

*Descripción:* esporas (Fig. 3.25 A) originadas de forma solitaria en el suelo, ocasionalmente en raíces, desarrollándose terminal o lateralmente a partir de una célula esporógena bulbosa, hialina cuando jóvenes y con contenido citoplasmático amarillo-oscuro en su madurez. Esporas hialinas (a menudo las esporas jóvenes se tornan opacas tras 24 h en agua) a amarillo ocre en su madurez debido a que el contenido citoplasmático se colorea, globosas a subglobosas, 178.9-286.7  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ , raramente irregulares.

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared externa consistente en 3 láminas (Fig. 3.25 B-C). Lámina 1 permanente, hialina, 1.0-2.0  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 2 laminada, lisa, hialina a amarilla pálido en esporas maduras, 1.2-7.7  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 semiflexible, lisa, hialina, 0.8-1.7  $\mu\text{m}$  de grosor. Adherida a L2. Tres láminas internas (Fig. 3.25 B-F) hialinas a amarillo ocre, flexibles y con un grosor cada una de 0.9-2.6, 0.9-2.7 y 1.1-2.3  $\mu\text{m}$  de ancho, respectivamente, y con dos subláminas cada una. Las láminas internas así como la L2 se tiñen de forma parcial con reactivo de Melzer (Fig. 3.25 E-F).

*Escudo de germinación* (Fig. 3.25 E, K-L): amarillo ocre, lobulado, oval u ovoide, a menudo en forma de violín, 88.0 x 75.9-153.4 x 107.1; simple o compuesto, con numerosos pliegues profundos; poros de germinación hacia el centro del escudo.

*Célula esporógena* (Fig. 3.25 E-J): hialina a amarillo-pálido, bulbosa, 15.0 x 15.0-59.1 x 82.0  $\mu\text{m}$  ancho x largo con o sin ramificación de la hifa.

*Pared de la célula esporógena* (Fig. 3.25 E-J): compuesta por 2 láminas hialinas a amarillo-pálido. Ambas juntas suman 1.1-2.1  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espora.

*Células auxiliares:* No observadas.

*Germinación:* Mediante tubos de germinación emergiendo a través del escudo de germinación.

Número de cultivos puros obtenidos: ninguno.

Estructuras simbióticas: no observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.26-27): desconocida aunque está relacionada con *Cetraspora helvetica* Oehl, Jansa, F.A. Souza & G.A. Silva, *C. gilmorei* (Trappe & Gerd.) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *C. pellucida* (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) Oehl, F.A. Souza & Sieverd. y *C. nodosa* (Błaszcz.) Oehl, G.A. Silva, B.T. Goto & Sieverd.

Distribución en el área de estudio: presente en todas las estaciones, años y especies vegetales de estudio. No se encontró en la localidad de “Les Palmeres” y en las dunas embrionarias. Abundante en la localidad de “Sant Antoni” (Cullera, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Cetraspora sucrosa* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris, & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *sucrosa* se refiere a que las poblaciones más abundantes se localizan cerca de la desembocadura del río Xúquer (Cullera, Valencia, España).

Tipo: “Sant Antoni” (39°09′14″N; 0°14′25″W), Cullera, Valencia, España. Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-17 y FAR-18) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR).  
Isotipos: FAR-19,20,21.

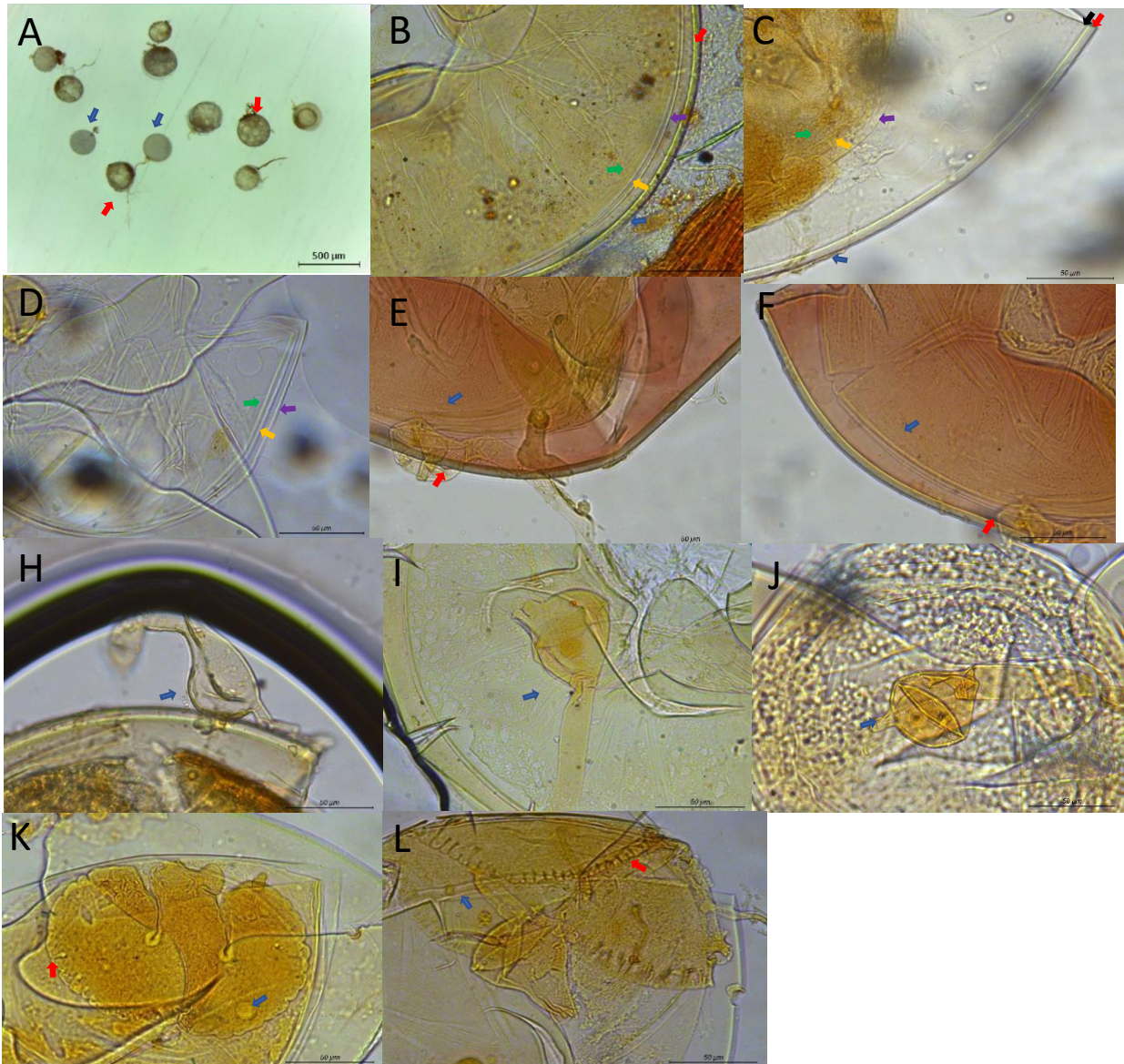


Figura 3.25. Morfotipo 7. A) Esporas juveniles (flecha azul) y maduras (flecha roja); B-F) Lámina 1 (L1) (flechas azules), Lámina 2 (L2) (flechas rojas) y Lámina 3 (flecha negra) de la pared externa así como las láminas internas 1, 2 y 3 (flechas morada, naranja y verde, respectivamente); H-J) célula esporógena (flecha azul) y escudo de germinación; K-L) poros de germinación (flechas azules) y lóbulos (flechas rojas). A) esporas en agua estéril bajo estereoscopio; B-D, H-L) en PVLG; E-F) en PVLG + Reactivo de Melzer (1:1) vistas en microscopio óptico.

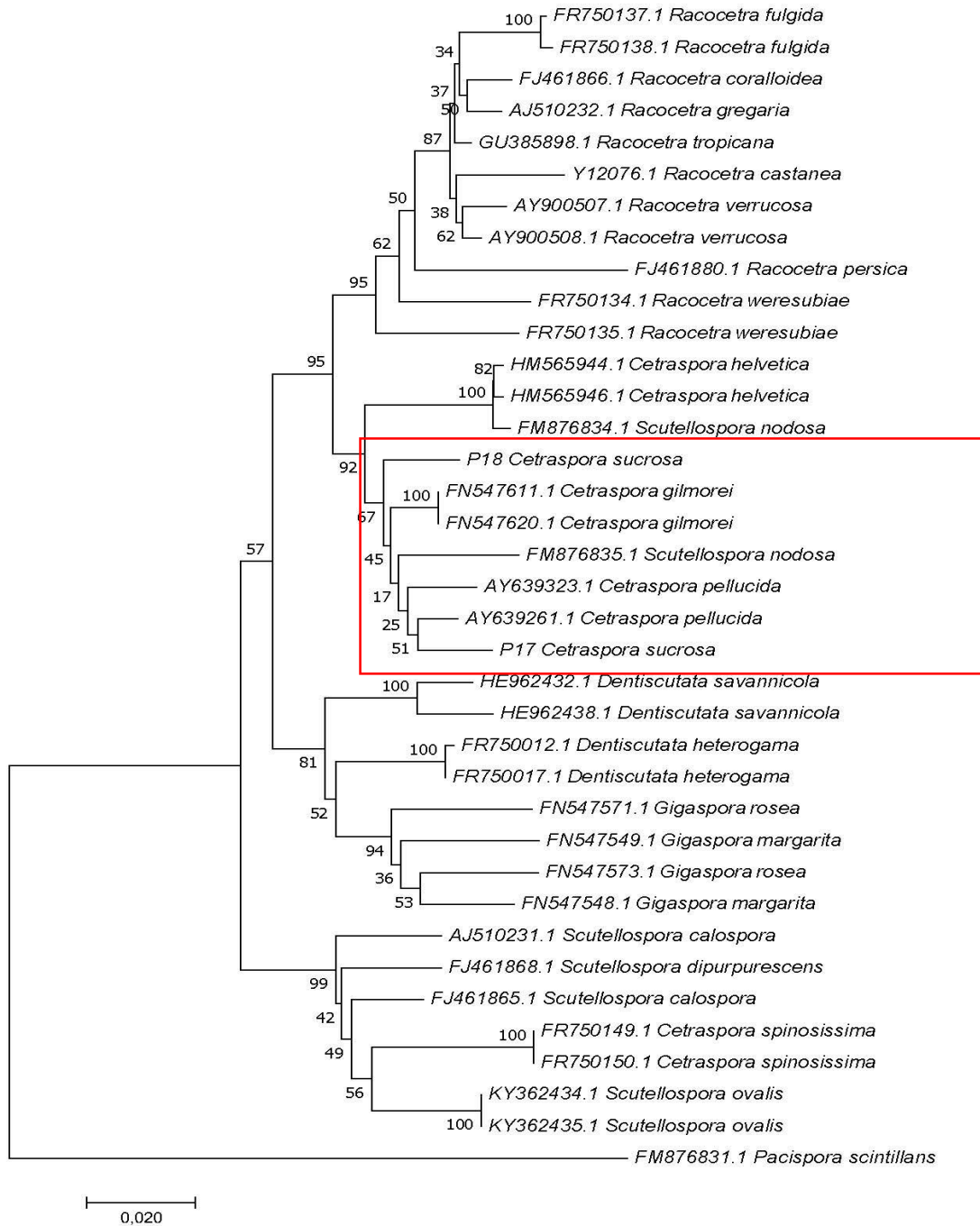


Figura 3.26. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 7 (secuencias P17 y P18). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 37 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.



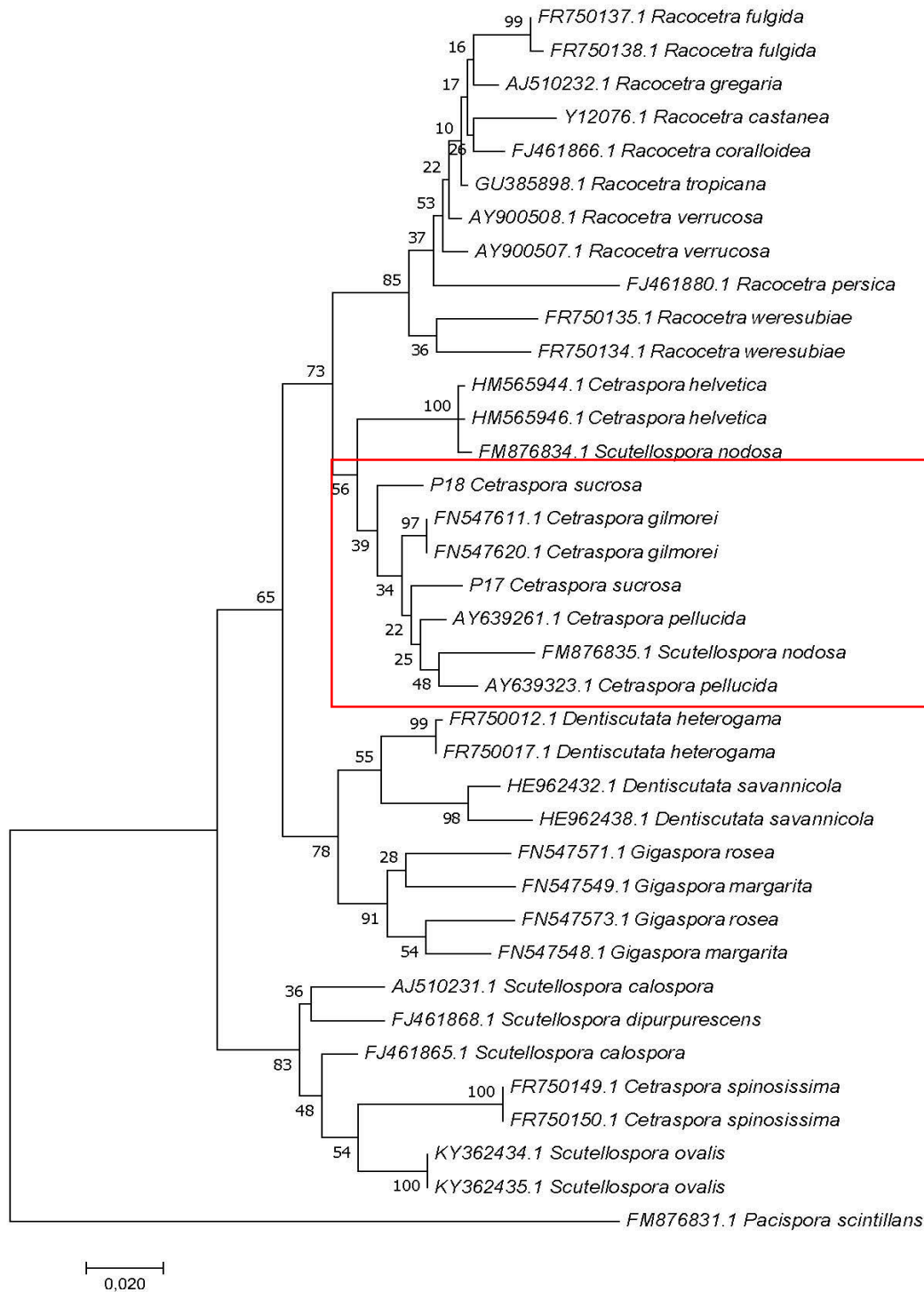


Figura 3.27. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 7 (secuencias P17 y P18). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 37 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis "Maximum Likelihood" incluye a *Pacispora scintillans* como "outgroup". Los valores del "Bootstrap" se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.8 Morfotipo 8

*Descripción:* esporas (Fig. 3.28 A-B) originadas de forma solitaria en el suelo, desarrollándose terminal o lateralmente a partir de una célula esporógena bulbosa. Esporas amarillo pastel en la madurez (en ocasiones pueden observarse formas albas), 129.4 x 276.6-182.7 x 413.7  $\mu\text{m}$  ancho x largo., normalmente irregulares. Ocasionalmente globosas o subglobosas.

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared externa consistente en 2 láminas (Fig. 3.28 C-M). Lámina 1 (L1) semipermanente, lisa, hialina, 0.8-1.7  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 2 (L2) laminada, amarilla pastel 4.6-14.0  $\mu\text{m}$  de grosor. Dos láminas internas (Fig. 3.28 C-F y I) hialinas, flexibles y con un grosor cada una de 1.3-3.1 y 1.1-3.6  $\mu\text{m}$ , respectivamente, y con 2 subláminas cada una. L2 se tiñe con el reactivo de Melzer y las láminas internas también, aunque de un modo más intenso.

*Escudo de germinación* (Fig. 3.28 H-J): hialino cuando es joven a amarillo pastel, en forma de violín, 24.9 x 117.9-25.4 x 146.8  $\mu\text{m}$  ancho x largo, simple o compuesto y con pocos pliegues aunque profundos; poros de germinación a menudo en la periferia.

*Célula esporógena* (Fig. 3.28 E, G-H y K-M): amarillo pastel, ovoide a clavada, 36.7 x 42.4-83.2 x 79.2  $\mu\text{m}$  de ancho x largo.

*Pared de la célula esporógena* (Fig. 3.28 K-M): compuesta por dos láminas. L1 hialina, difícil de ver; L2 amarilla brillante a naranja. Ambas juntas suman 1.4-4.0  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espora.

*Células auxiliares:* No observadas.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: ninguno.

Estructuras simbióticas: no observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.29-30): dentro del mismo clado que *Scutellospora calospora* según Amarasinghe, B.H.R.R. y Morton, J.B. Sin embargo, está más alejada del material tipo de *Sc. calospora* (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & F.E. Sanders.

Distribución en el área de estudio: presente en todas las localidades, hábitats, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Abundante en las localidades de "El Perelló" (Sueca, Valencia, España) y "Burguera" (Oliva, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Scutellospora deformata* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris, & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *deformata* se refiere a que sus esporas son sumamente irregulares de forma habitual.

Tipo: "El Perelló" (39°17'11''N; 0°16'49''W), Sueca, Valencia, España. Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-22 y FAR-23) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-24,25,26.

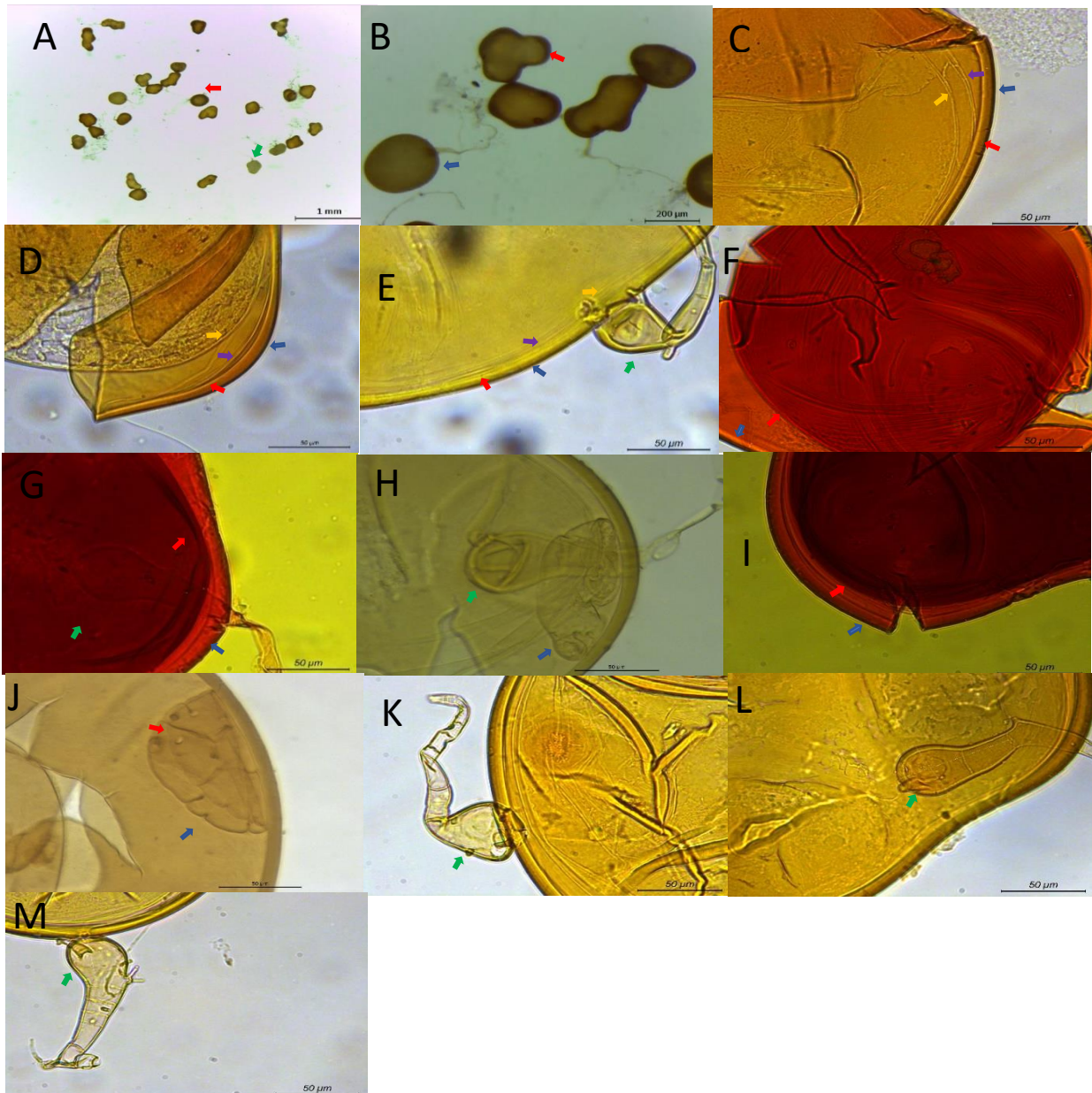


Figura 3.28. A) Morfotipo 8. Esporas, formas albas señaladas por flecha verde; B) detalle de esporas intactas. Flechas azules indican esporas regulares y flechas rojas irregulares; C-E) Lámina 1 (L1) (flechas azules) y Lámina 2 (L2) (flechas rojas) de la pared externa así como las láminas internas 1 y 2 (flechas morada y naranja, respectivamente). F-G y I) Lámina 2 (flecha azul) y láminas internas (flecha roja) teñidas de rojo. E-H y J-M) célula esporógena (flecha verde) y detalle de su pared. A-B) esporas en agua estéril bajo estereoscopio; C-E, H y J-M) montadas en PVLG; F-G y I) en PVLG + Reactivo de Melzer (1:1) vistas en microscopio óptico.



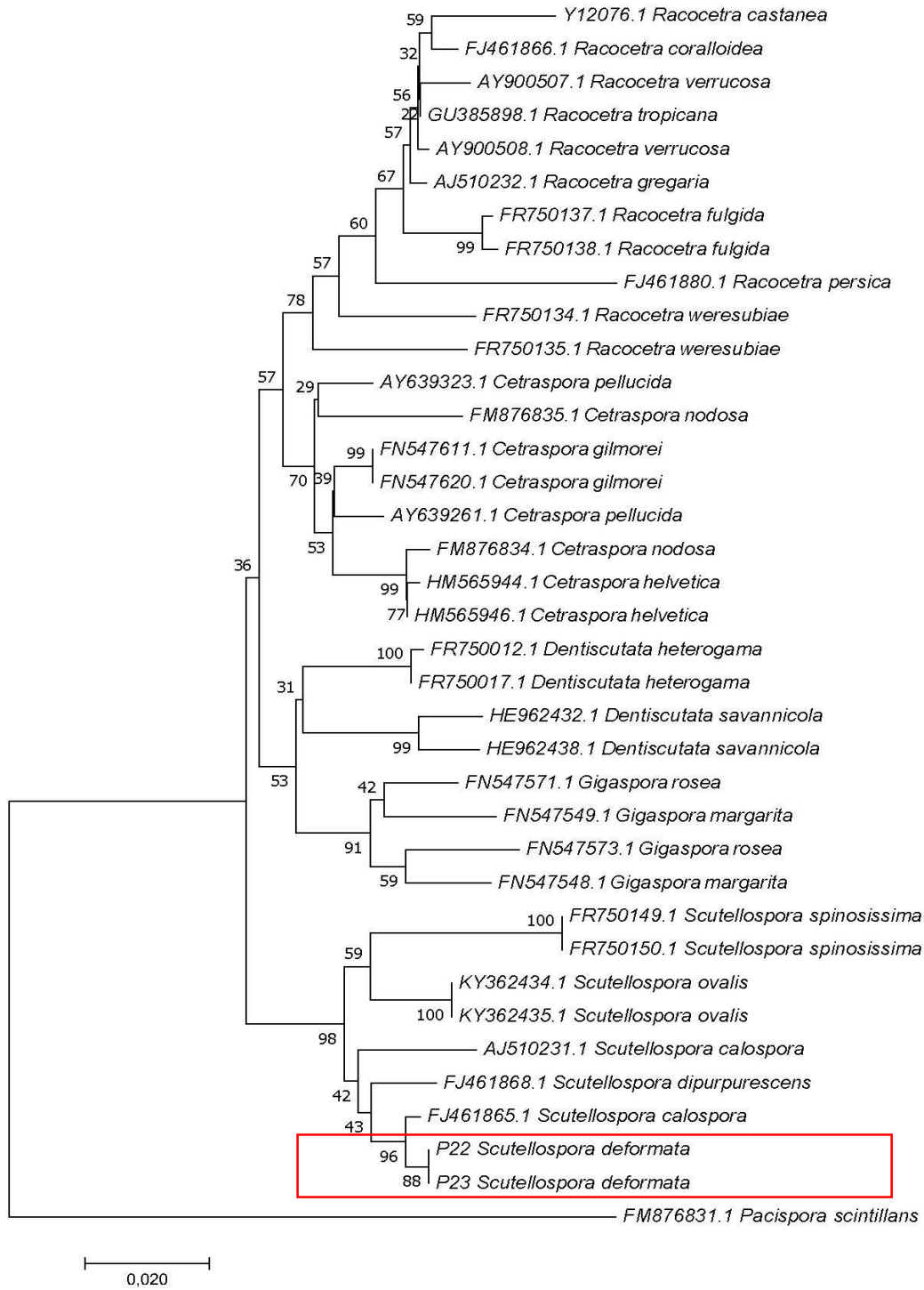


Figura 3.29. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 37 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 8 (secuencias P22 y P23). El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

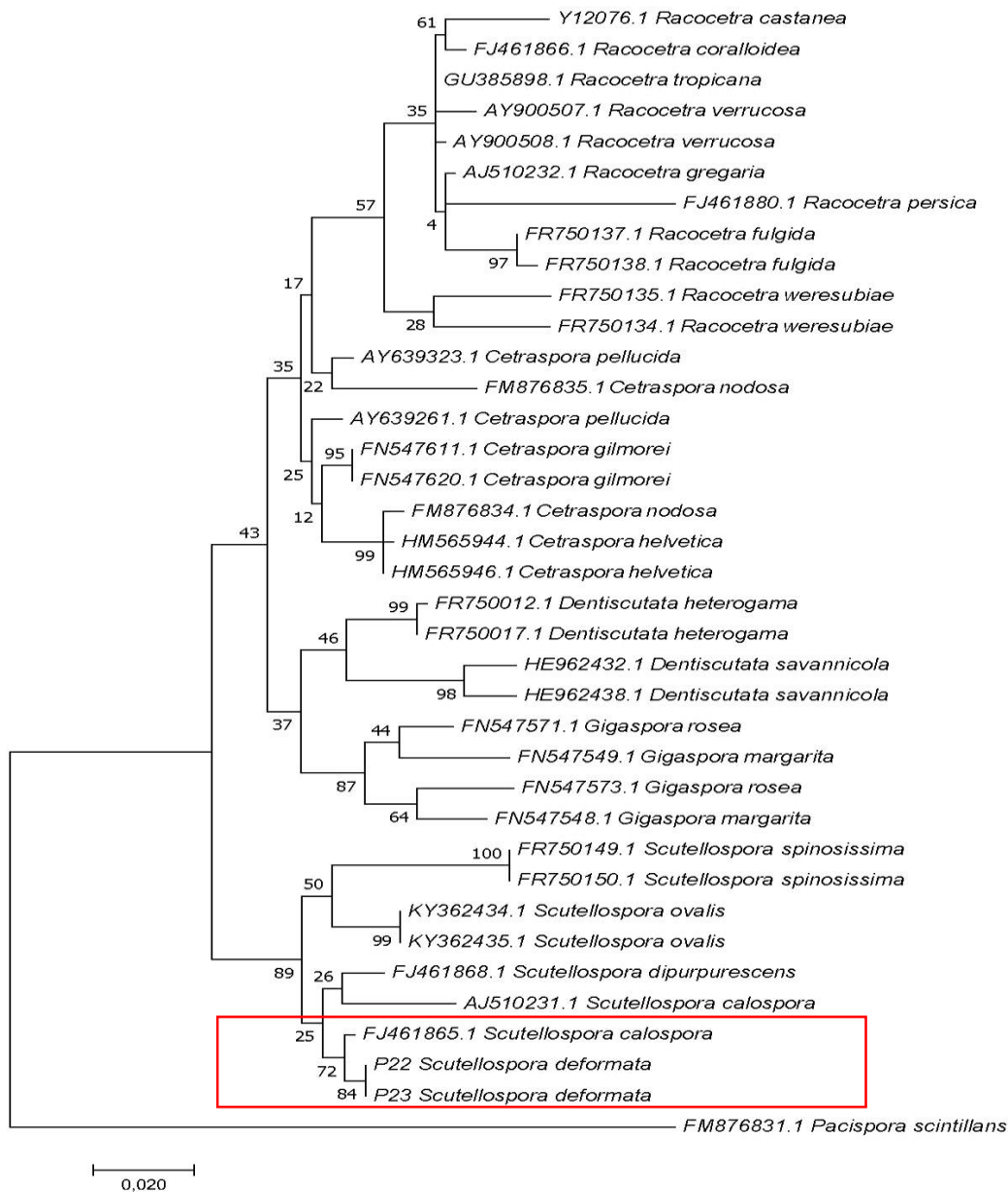


Figura 3.30. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 37 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 8 (secuencias P22 y P23). El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.9 Morfotipo 9

*Descripción:* esporas (Fig. 3.31 A) originadas de forma solitaria en el suelo, también en raíces, desarrollándose terminal o lateralmente a partir de una célula esporógena bulbosa. Esporas marrón café cuando son maduras, 150.9 x 394.5-158.2 x 454.5  $\mu\text{m}$  de ancho x largo, normalmente irregulares.

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared consistente en 3 láminas (Fig. 3.31 B-C). Lámina 1 semipermanente, hialina, 1.2-2.6  $\mu\text{m}$  de grosor. A menudo solo quedan restos de ella en esporas muy viejas. Lámina 2 laminada, lisa, marrón café, 4.5-15.7  $\mu\text{m}$  de grosor. Lámina 3 semiflexible, lisa, hialina, 1.1-2.5  $\mu\text{m}$  de grosor. Adherida a L2. Tres láminas internas (Fig. 3.31 D-G) hialinas, flexibles y con un grosor cada una de 1.50-3.9, 2.0-4.0 y 3.0-4.0  $\mu\text{m}$ , respectivamente, y con 2 subláminas cada una. La tercera lámina interna se tiñe de rojo con PVLG + Reactivo de Melzer (1:1).

*Escudo de germinación* (Fig. 3.31 H-I): marrón-café, simple, muy levemente lobulado, casi esférico en ocasiones, 106.0 x 76.9-122 x 124.3  $\mu\text{m}$  de ancho x largo, pliegues profundos acabados en poros de germinación; poros de germinación hacia el centro del escudo.

*Célula esporógena* (Fig. 3.31 J-L): marrón-café, bulbosa, 39.2 x 35.2- 93.8 x 122.8  $\mu\text{m}$  ancho x largo, con o sin ramificación de la hifa.

*Pared de la célula esporógena* (Fig. 3.9.5 L): compuesta por 2 láminas. Lámina 1 hialina, lisa; Lámina 2 marrón café. Ambas juntas suman 1.2-4.2  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espora.

*Células auxiliares:* No observadas.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: ninguno.

Estructuras simbióticas: no observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.32-33): desconocida, aunque está relacionada con *Racocetra verrucosa* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. tropicana* Oehl, B.T. Goto & G.A. Silva, *R. coralloidea* (Trappe, Gerd. & I. Ho) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. gregaria* (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. castanea* (C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. weresubiae* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. persica* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd. y *R. fulgida* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.

Distribución en el área de estudio: presente en todas las localidades, hábitats, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Abundante en la localidad de "Sant Antoni" (Cullera, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Racocetra sicanica* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris, & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *sicanica* se refiere a la localidad tipo, "Sant Antoni" (Cullera, Valencia, España).

Tipo: "Sant Antoni" (39°09'14"N; 0°14'25"W), Cullera, Valencia, España. Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-27 y FAR-28) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-29,30,31.

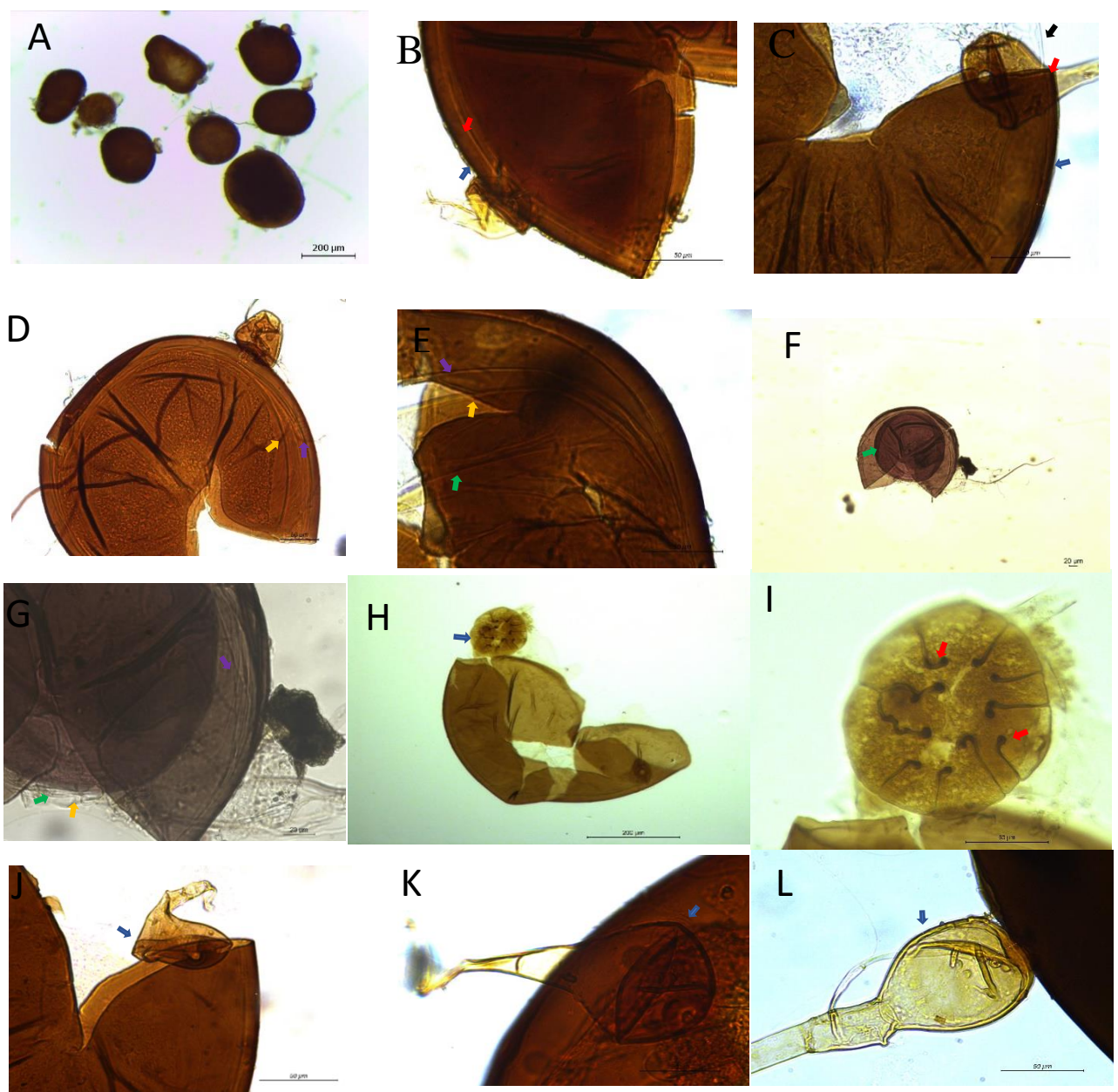


Figura 3.31. Morfotipo 9. A) Esporas; B) Lámina 1 (L1) y Lámina 2 (L2) (flecha azul y roja, respectivamente); C-G) Láminas internas 1,2 y 3 señaladas por flecha morada, amarilla y verde, respectivamente; H-I) escudo de germinación (flecha azul) con sus poros de germinación (flechas rojas); J-L) célula esporógena (flecha azul). A) esporas en agua estéril bajo estereoscopio; B-E y H-L) montadas en PVLG; F-G) montadas en PVLG + Reactivo de Melzer (1:1) vistas en microscopio óptico.

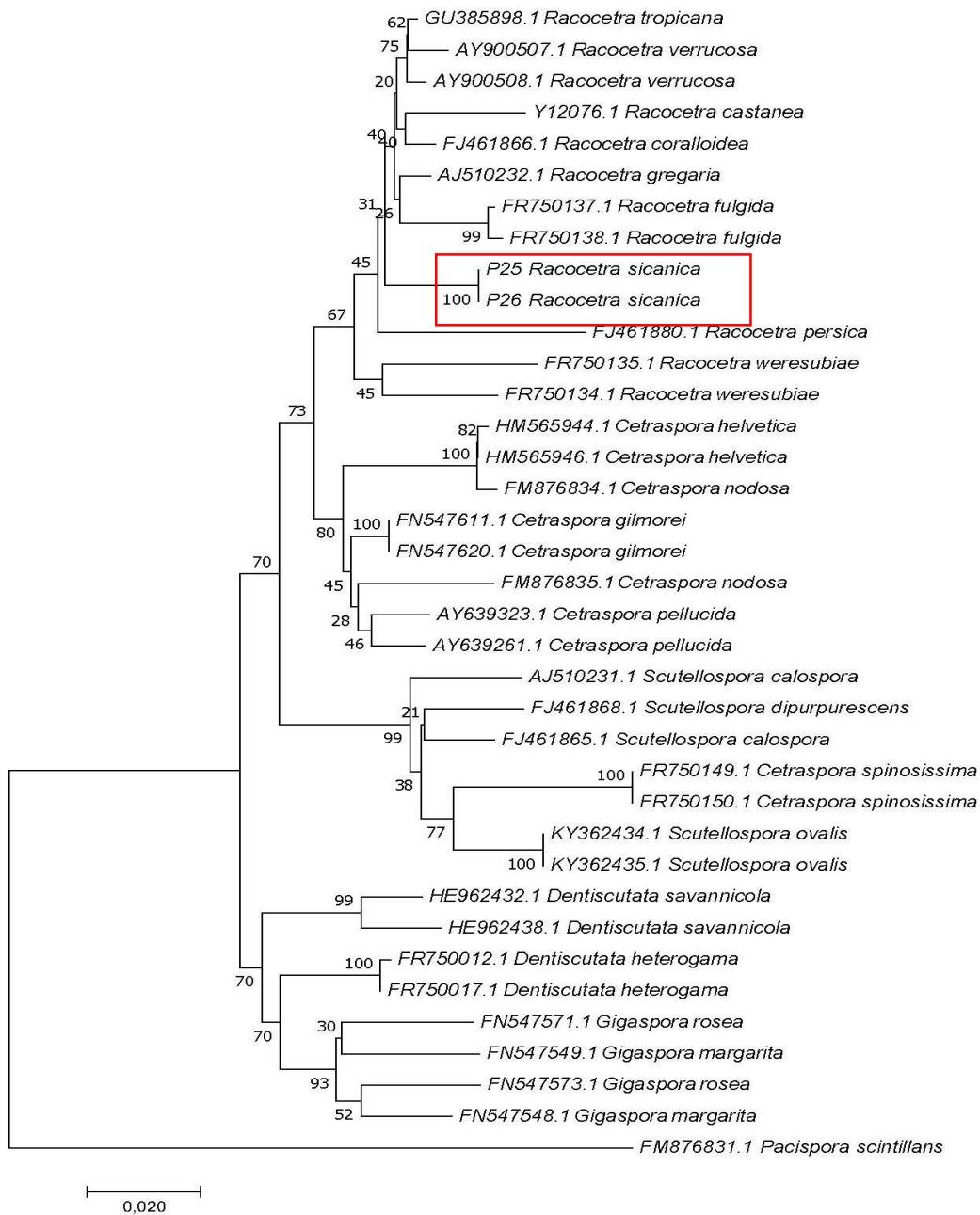


Figura 3.32. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 37 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 9 (secuencias P25 y P26). El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.



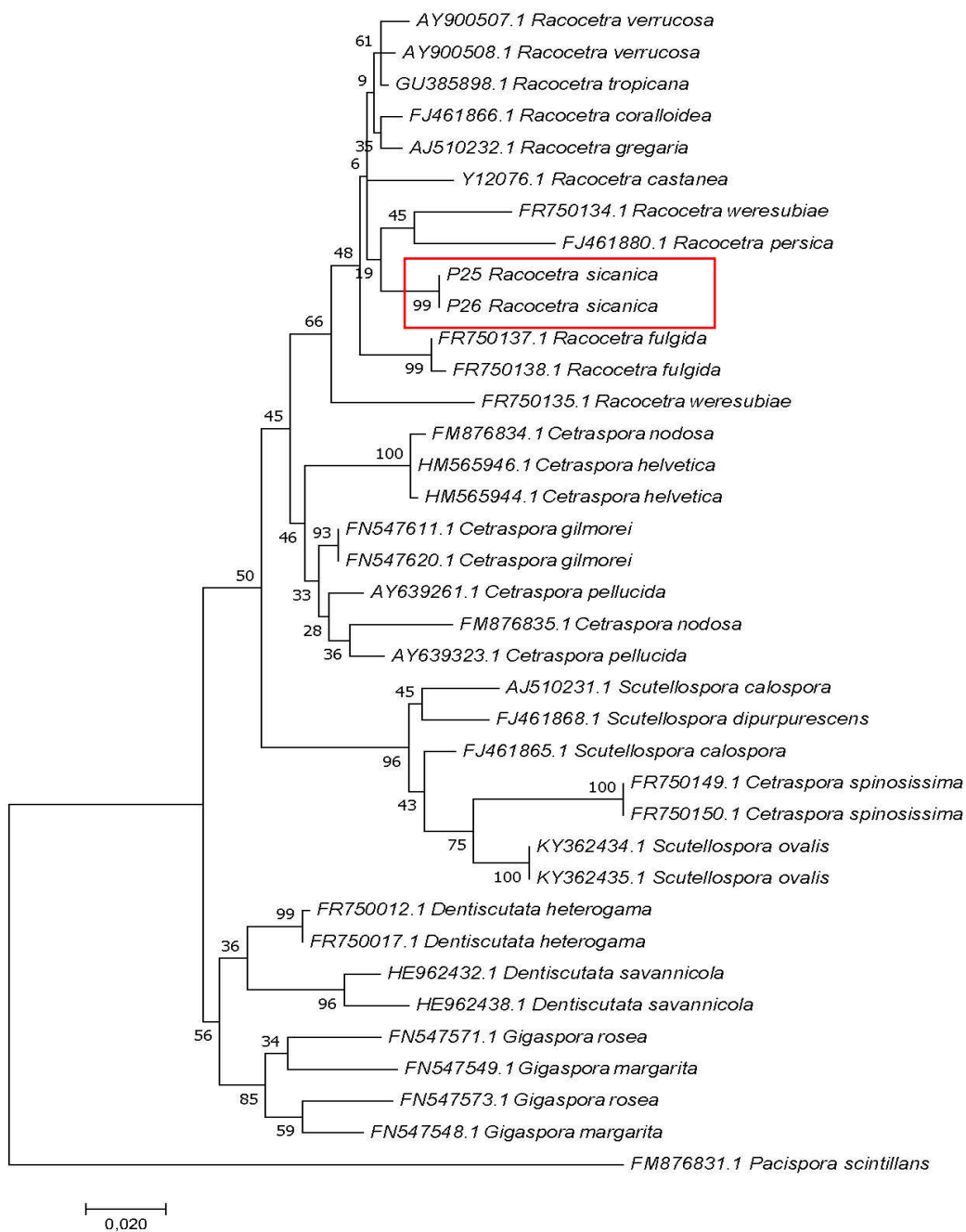


Figura 3.33. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad larga (LSU) del ADNr de 37 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 9 (secuencias P25 y P26). El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.1.10. Morfotipo 10

*Descripción:* esporas (Fig. 3.34 A-B) originadas de forma solitaria en el suelo, también en raíces, desarrollándose terminal o lateralmente a partir de una célula esporógena bulbosa (o dos, excepcionalmente). Esporas de color anaranjado a rojo intenso, 191.3-412.7  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$ , globosas a subglobosas, normalmente regulares.

*Estructuras subcelulares de las esporas:* pared consistente en 3 láminas (Fig. 3.34 C-G). Lámina 1 decidua, hialina, 0.8-2.6  $\mu\text{m}$  de grosor, ornamentada con proyecciones papilosas de 0.3-7.1  $\mu\text{m}$  de  $\emptyset$  y 0.3-1.8  $\mu\text{m}$  de altura. Lámina 2 laminada, lisa, naranja a rojo intenso, 7.7-13.5  $\mu\text{m}$  de grosor en esporas maduras. Lámina 3 semiflexible, lisa, hialina, 1.0-3.3  $\mu\text{m}$  de grosor. Adherida a L2. Tres láminas internas (Fig. 3.34 F-G) hialinas, flexibles y con grosor de 1.5-2.7, 1.1-2.1 y 1.1-2.9  $\mu\text{m}$  de grosor cada una, respectivamente, y con 2 subláminas cada una. En esporas maduras ninguna lámina se tiñe con reactivo de Melzer.

*Escudo de germinación* (Fig. 3.34 H-I): de hialino a rojo intenso, simple o compuesto, lobulado, oval u ovoide, 28.3 x 53.8-128.7 x 198.2  $\mu\text{m}$  de ancho x largo, pliegues muy poco profundos; poros de germinación envolviendo la periferia. Difícil de distinguir a menudo. *Célula esporógena* (Fig. 3.34 J-K): amarilla a marrón-rojiza, bulbosa, 40.5 x 57.8-109.5 x 123.0  $\mu\text{m}$  ancho x largo, con o sin ramificación de la hifa.

*Pared de la célula esporógena* (Fig. 3.34 K): compuesta por 2 láminas. Lámina 1 hialina, lisa; Lámina 2 amarilla a marrón-rojiza. Ambas juntas suman 1.5-4.9  $\mu\text{m}$  de grosor en la base de la espóra.

*Células auxiliares* no observadas.

*Germinación:* No observada.

Número de cultivos puros obtenidos: ninguno.

Estructuras simbióticas: no observadas.

Posición filogenética (Figs. 3.35-36): desconocida, aunque está relacionada con *Racocetra verrucosa* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. tropicana* Oehl, B.T. Goto & G.A. Silva, *R. coralloidea* (Trappe, Gerd. & I. Ho) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. gregaria* (N.C. Schenck & T.H. Nicolson) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. castanea* (C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. weresubiae* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd., *R. persica* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd. y *R. fulgida* (Koske & C. Walker) Oehl, F.A. Souza & Sieverd.

Distribución en el área de estudio: presente en todas las localidades, hábitats, estaciones, años y especies vegetales de estudio. Abundante en las localidades de “La Garrofera” (El Saler, Valencia, España), “Burguera” (Oliva, Valencia, España) y “Sant Antoni” (Cullera, Valencia, España).

Nomenclatura:

*Racocetra papillosa* A. Guillén, F.J. Serrano, J.B. Peris, & Arrillaga, I., sp. nov.

Etimología: *papillosa* se refiere a la reticulación papilosa de la superficie de la L1 de la pared esporal.

Tipo: “Sant Antoni” (39°09′14″N; 0°14′25″W), Cullera, Valencia, España. Encontrada en muestras de la rizosfera de *E. farctus*, *A. arenaria* y *E. spinosa* tomadas en dunas móviles durante los años 2014-2016. Holotipo, preparaciones permanentes (FAR-32 y FAR-33) de PVLG y PVLG + MELZER (1:1) depositadas en la Facultad de Farmacia, Depto. de Biología Vegetal. Universitat de València (FAR). Isotipos: FAR-34,35,36.



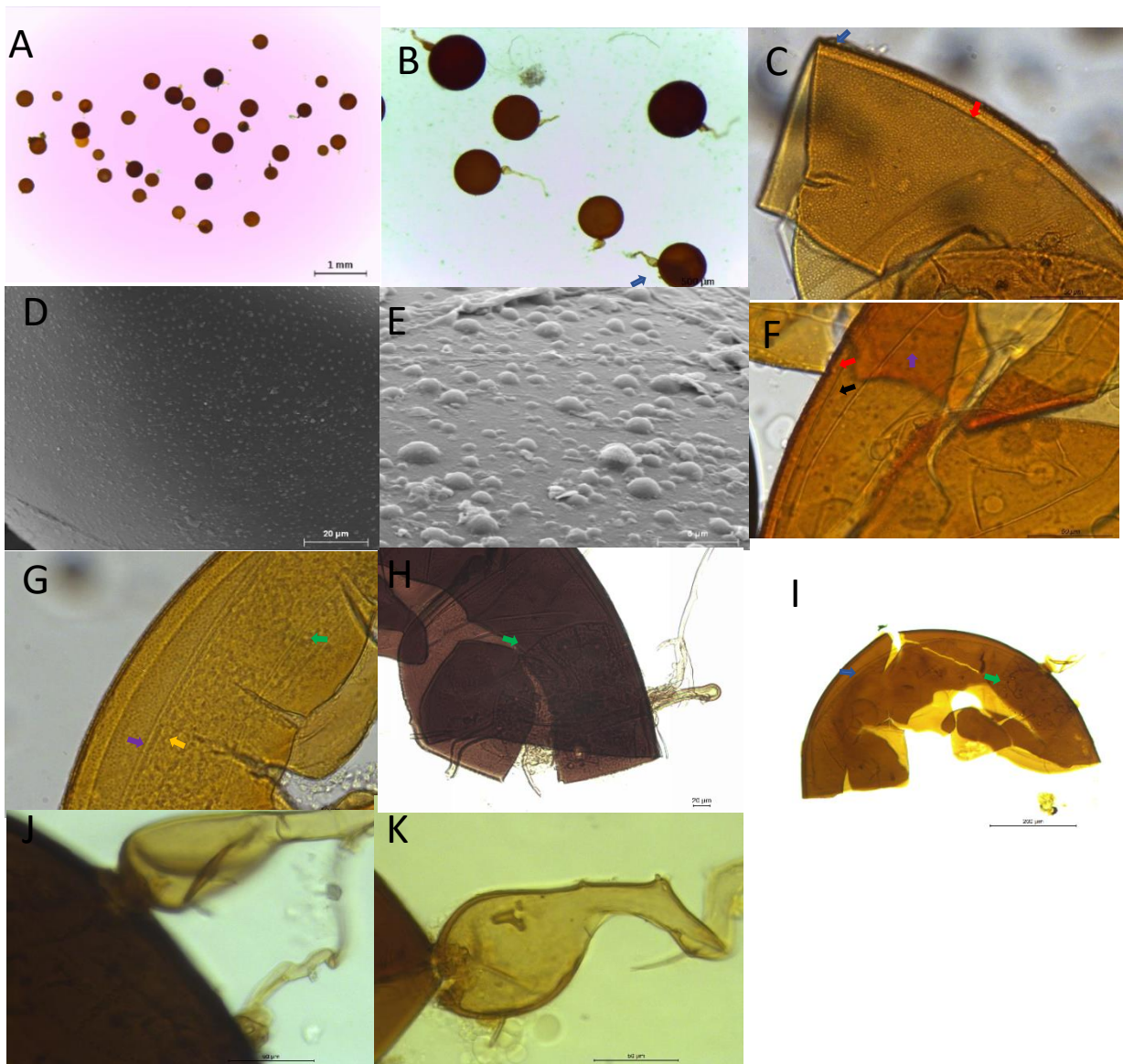


Figura 3.34. Morfotipo 10. A-B) Esporas; C) Lámina 1 (L1), Lámina 2 (L2) y Lámina 3 señalada con flecha azul, roja y negra, respectivamente); E-F) Lámina interna 1, 2 y 3 señalada con flecha morada, naranja y verde, respectivamente; D-E) ornamentación de L1; G-H) escudo de germinación señalado por flecha verde; I-J) célula esporógena. A-B) esporas en agua estéril bajo estereoscopio; C, F-K) en PVLG vistas en microscopio óptico; D-E) superficie de L1 vista en microscopio electrónico de barrido (ME).

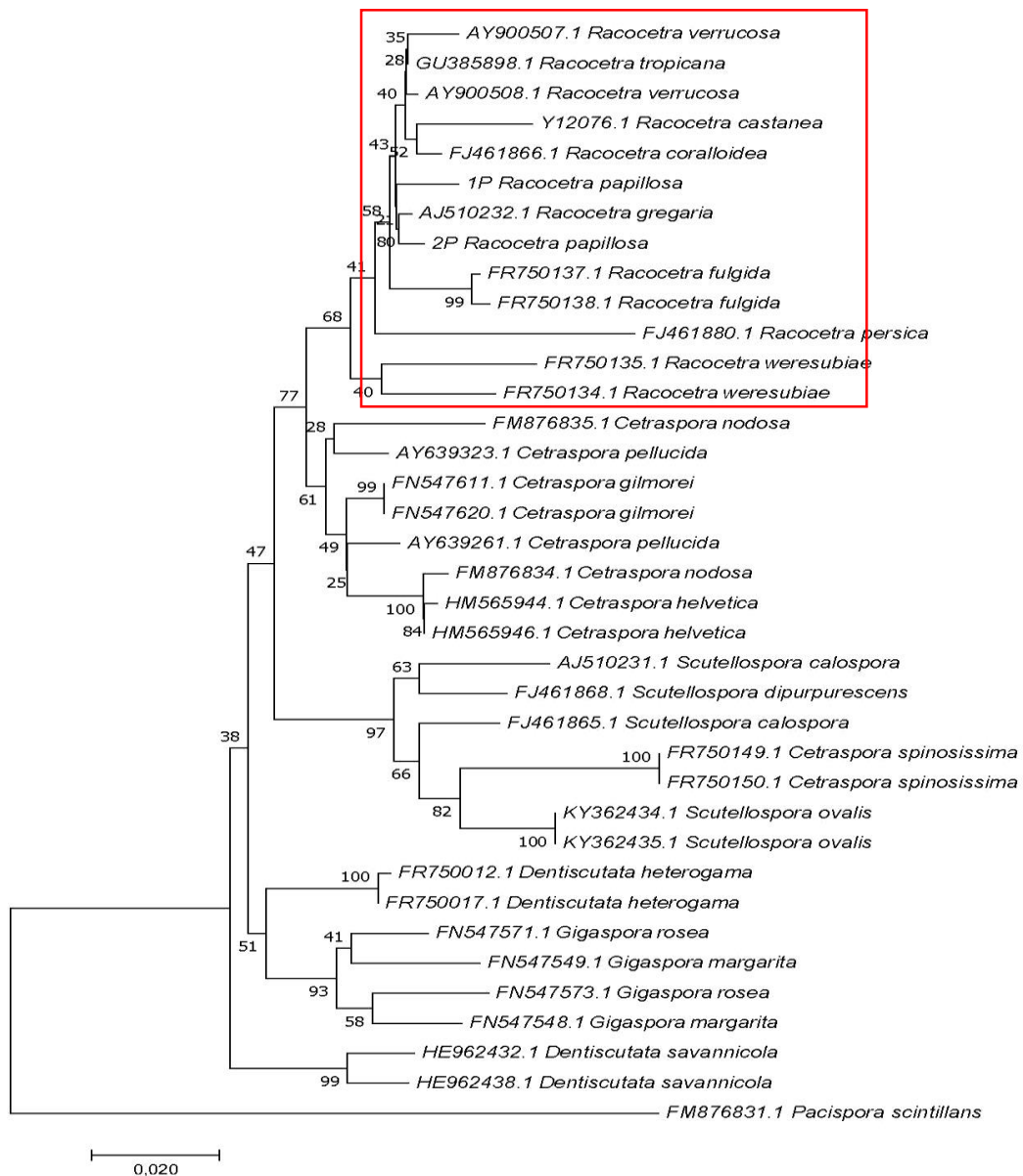


Figura 3.35. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 10 (secuencias 1P y 2P). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 37 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Neighbor-Joining” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

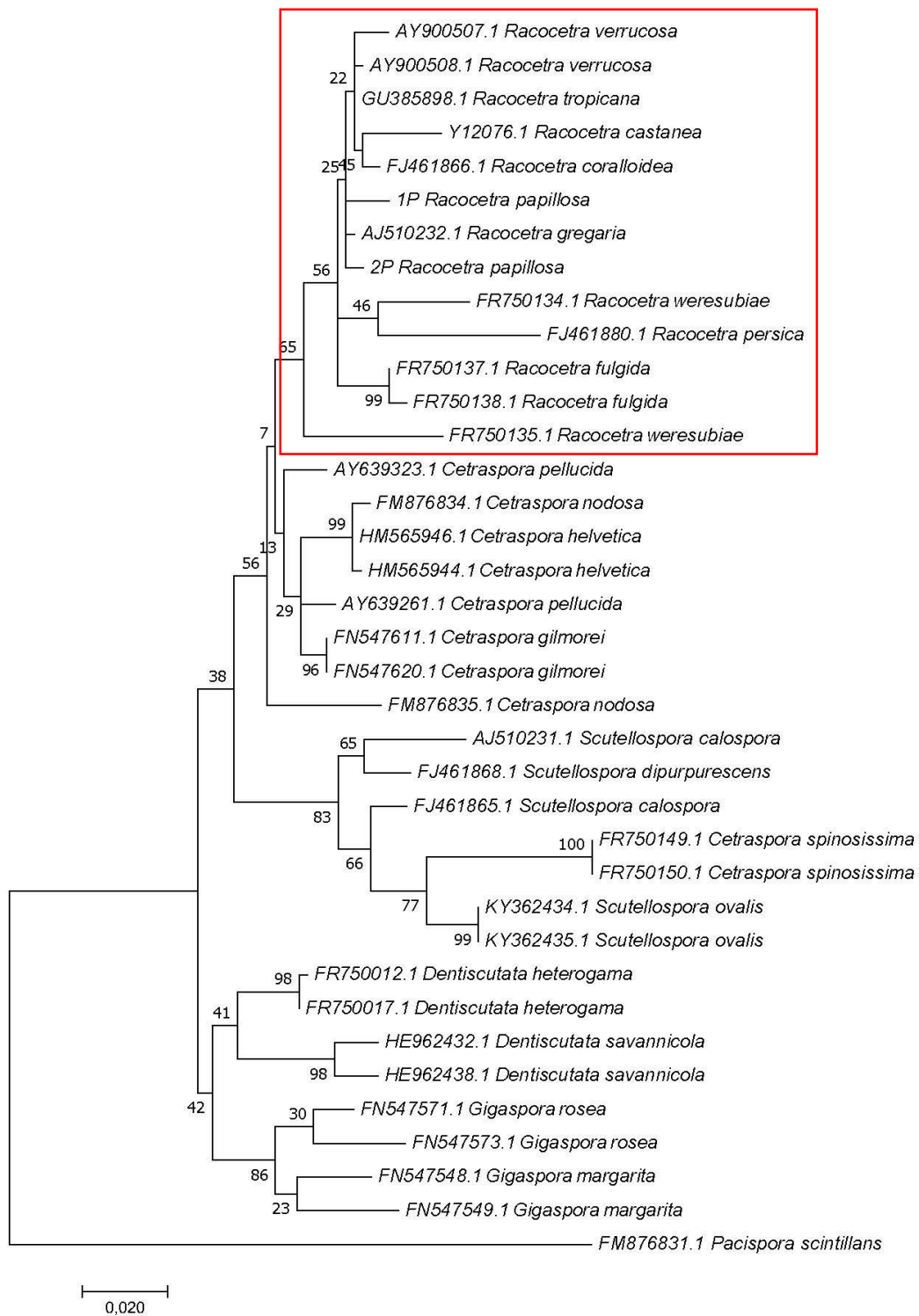


Figura 3.36. Árbol filogenético basado en secuencias de parte de la subunidad pequeña (SSU) y larga (LSU) del ADNr de 37 aislados de HMA, incluyendo el Morfotipo 10 (secuencias 1P y 2P). También se incluyeron los ITS1, subunidad 5.8S y ITS2 de 38 aislados de HMA. Cuando no se encontraron secuencias correspondientes a algunos táxones de SSU, ITS1, 5.8S y ITS2 se utilizó parte de la secuencia LSU. El análisis “Maximum Likelihood” incluye a *Pacispora scintillans* como “outgroup”. Los valores del “Bootstrap” se dan para cada rama. La escala indica el número de sustituciones por secuencia.

### 3.2. Caracterización del suelo, clima y paisaje de las zonas de estudio

#### 3.2.1. Suelo

La caracterización del suelo se realizó en base a su contenido elemental (Anexo I), pH, conductividad eléctrica y presencia de raíces.

La prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (K-W) para muestras independientes mostró que los datos de conductividad eléctrica (CE), pH y cantidad de raíces finas del suelo de todas las especies vegetales en las dunas móviles de las localidades de “La Garrofera” y “El Dosser” no se distribuían de forma distinta según las especies vegetales con una significancia ( $\alpha$ ) del 0.05. Los p-valores de la prueba de K-W para la cantidad de raíces finas en el suelo, pH y CE fueron 0.102, 0.754 y 0.799, respectivamente. Los datos de estas variables se encuentran en la Tabla 3.1. Puesto que la prueba no paramétrica fue negativa, se procedió a medir la cantidad de raíces finas en el suelo, pH y CE solo en *E. farctus*, la especie vegetal presente en todas las localidades.

Tabla 3.1. Características del suelo según localidades (P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”), hábitat (DE: dunas embrionarias; E: ecotono; y DM: dunas móviles), estación y año. Raíces: peso de raíces finas en el suelo. CE: conductividad eléctrica. Los valores son medias  $\pm$  SE de 715 muestras.

| Localidad | Raíces (g)        | CE ( $\mu$ S/cm) | pH              |
|-----------|-------------------|------------------|-----------------|
| P1        | 0.045 $\pm$ 0.004 | 210.4 $\pm$ 15.4 | 7.77 $\pm$ 0.03 |
| P2        | 0.033 $\pm$ 0.003 | 212.2 $\pm$ 19.5 | 7.68 $\pm$ 0.02 |
| P3        | 0.044 $\pm$ 0.005 | 276.2 $\pm$ 28.2 | 7.56 $\pm$ 0.02 |
| P4        | 0.038 $\pm$ 0.004 | 174.8 $\pm$ 15.2 | 7.60 $\pm$ 0.02 |
| P5        | 0.032 $\pm$ 0.004 | 133.2 $\pm$ 10.2 | 7.70 $\pm$ 0.03 |
| P6        | 0.045 $\pm$ 0.006 | 127.7 $\pm$ 10.3 | 7.60 $\pm$ 0.03 |
| Hábitat   |                   |                  |                 |
| DE        | 0.013 $\pm$ 0.001 | 195.9 $\pm$ 11.5 | 7.69 $\pm$ 0.02 |
| E         | 0.035 $\pm$ 0.002 | 243.9 $\pm$ 16.8 | 7.66 $\pm$ 0.02 |
| DM        | 0.068 $\pm$ 0.004 | 128.0 $\pm$ 7.2  | 7.61 $\pm$ 0.02 |
| Estación  |                   |                  |                 |
| Otoño     | 0.040 $\pm$ 0.004 | 136.0 $\pm$ 12.6 | 7.71 $\pm$ 0.02 |

|           |              |             |            |
|-----------|--------------|-------------|------------|
| Invierno  | 0.036 ±0.003 | 167.5 ±12.6 | 7.67 ±0.02 |
| Primavera | 0.047 ±0.004 | 176.5 ±7.8  | 7.74 ±0.02 |
| Verano    | 0.037 ±0.003 | 275.4 ±20.9 | 7.51 ±0.02 |
| <hr/>     |              |             |            |
| Año       |              |             |            |
| <hr/>     |              |             |            |
| 2014/2015 | 0.037 ±0.003 | 179.5 ±9.8  | 7.62 ±0.02 |
| 2015/2016 | 0.042 ±0.002 | 198.8 ±11.1 | 7.70 ±0.02 |
| <hr/>     |              |             |            |

La CE y el pH del suelo variaron entre localidades, hábitats, estaciones y año de muestreo (Tabla 3.1). En relación con las localidades, “Burguera” y “Sant Antoni” mostraron la CE más baja y “Les Palmeres” la más alta. El pH varió de 7.56, en “Les Palmeres”, a 7.77 en “La Garrofera” (Tabla 3.1). La cantidad de raíces, CE y pH difirieron entre hábitats (Tabla 3.1). Las dunas móviles presentaron la mayor cantidad de raíces y el menor CE y pH. Considerando la temporada, la CE fue más alta en verano en comparación con el otoño o el invierno. Por el contrario, el pH en otoño o invierno fue más alto en comparación con el verano. El pH fue ligeramente mayor durante el segundo año (Tabla 3.1).

### 3.2.2. Clima

El promedio de la temperatura media diaria (Tmed), la precipitación media diaria (PrecMed) y el promedio de la racha diaria de viento (Racha) se presentan en la Tabla 3.2. Las temperaturas medias diarias (Tmed) fueron más bajas en “Burguera” en comparación con las otras localidades (Tabla 3.2). Como se esperaba, la Tmed más baja se registró en invierno y la más alta en verano (Tabla 3.2). La precipitación media diaria (PrecMed) fue más alta en otoño y más baja en primavera (Tabla 3.2). Las ráfagas de viento diarias promedio (Racha) fueron más altas en invierno y más bajas en otoño (Tabla 3.2). El segundo año fue más frío (Tmed fue casi 1°C más bajo) y más húmedo (más del doble de PrecMed) que el primero.

Tabla 3.2. Características climáticas de cada localidad (P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”), estación y año. Tmed: promedio de la temperatura media diaria; PrecMed: precipitación media diaria; y Racha: promedio de la racha diaria de viento. Los datos son la media  $\pm$  SE de 729 muestras.

| Localidad        | Tmed (°C)      | PrecMed (mm)    | Racha (Km/h)   |
|------------------|----------------|-----------------|----------------|
| P1*              | 19.4 $\pm$ 0.3 | 0.74 $\pm$ 0.27 | 30.1 $\pm$ 0.7 |
| P2, P3, P4, P5** | 19.9 $\pm$ 0.4 | 0.66 $\pm$ 0.25 | 31.1 $\pm$ 0.6 |
| P6***            | 18.5 $\pm$ 0.4 | 0.73 $\pm$ 0.26 | 30.4 $\pm$ 0.8 |
| Estación         |                |                 |                |
| Otoño            | 18.9 $\pm$ 0.2 | 1.49 $\pm$ 0.55 | 24.7 $\pm$ 0.8 |
| Invierno         | 12.5 $\pm$ 0.2 | 0.47 $\pm$ 0.17 | 34.3 $\pm$ 1.2 |
| Primavera        | 19.1 $\pm$ 0.2 | 0.28 $\pm$ 0.09 | 31.0 $\pm$ 0.6 |
| Verano           | 26.9 $\pm$ 0.2 | 0.65 $\pm$ 0.22 | 32.0 $\pm$ 0.5 |
| Año              |                |                 |                |
| 2014/2015        | 19.7 $\pm$ 0.3 | 0.46 $\pm$ 0.11 | 31.3 $\pm$ 0.6 |
| 2015/2016        | 18.8 $\pm$ 0.3 | 0.96 $\pm$ 0.29 | 29.7 $\pm$ 0.6 |

Datos de estaciones meteorológicas de Valencia \*, Sueca \*\* y Oliva \*\*\*, respectivamente.

Las variables climáticas empleadas en este estudio se muestran detalladamente en el Anexo II.

### 3.2.3. Paisaje

En cuanto a la caracterización del paisaje (Fig. 3.37), “La Garrofera” fue la única localidad con una gran extensión de dunas fijas (116.8 m de ancho) con vegetación típica de dunas de arena (*Crucianelletum maritimae* Br.-Bl. 1933). Los hábitats en esta localidad se restauraron parcial (dunas móviles) o totalmente (ecotono) entre 2001-2014. Las dunas fijas, antiguas y sin vegetación típica (<20 m de ancho) también estuvieron presentes en “El Perelló”, “El Dosser” y “Sant Antoni”. En “Les Palmeres” se restauraron las dunas del ecotono (parcialmente) y móviles (totalmente) y había un malecón turístico detrás de las dunas móviles. En “Burguera”, las dunas móviles se restauraron mientras que el ecotono se mantuvo desde al menos 1956. Cabe destacar que “Sant Antoni” y “El Perelló” fueron las únicas localidades que no han experimentado ningún trabajo de restauración. La principal diferencia entre ambos es la influencia de la actividad marina sedimentaria en “Sant Antoni” que no está presente en “El Perelló”.

### Desierto mesolitoral, Ecocono, Dunas móviles y Dunas fijas

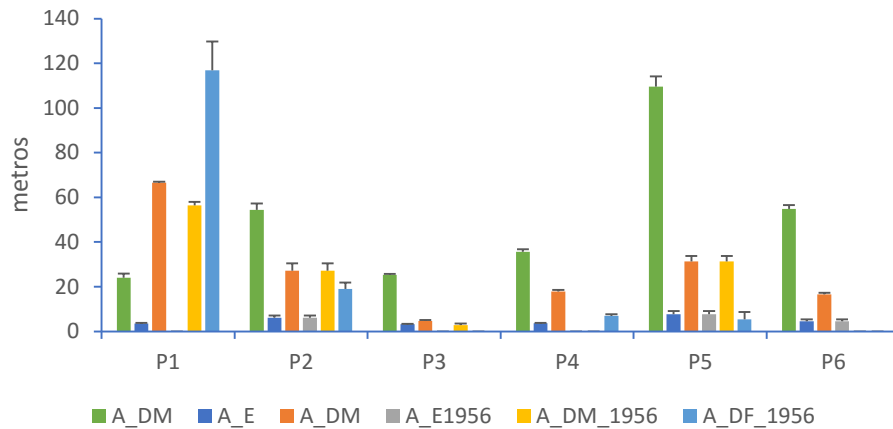


Figura 3.37. Caracterización de cada localidad considerando el ancho al inicio del muestreo (año 2014) del desierto mesolitoral (A\_DM); ancho del ecotono al inicio del muestreo (A\_E); ancho de las dunas móviles al inicio del muestreo (A\_DM); ancho del ecotono con suelo de 1956 (A\_E\_1956); ancho de las dunas móviles con suelo de 1956 (A\_DM\_1956); y ancho de las dunas fijas con suelo de 1956 (A\_DF\_1956). Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 6 muestras.

Cabe mencionar que “Sant Antoni”, “Burguera” y “El Perelló” presentaron el mayor desierto mesolitoral (>50m) y “El Dosser”, “Burguera” y “La Garrofera” se enclavaron en sistemas dunares de una continuidad >1Km (Fig. 3.38).

### Sistema Dunar

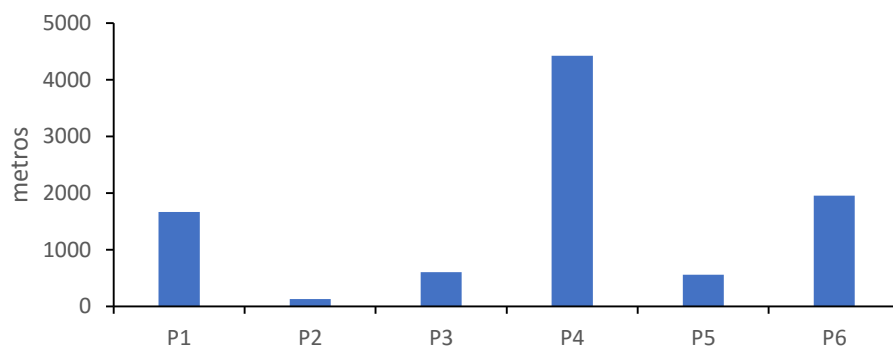


Figura 3.38. Longitud del sistema dunar (L\_SD) de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”.

Respecto a la distribución de las especies vegetales muestreadas atendiendo al espacio (Tabla 3.3) y el tiempo, *E. farctus* fue la única especie vegetal encontrada en todos los hábitats, localidades, estaciones y años, a excepción del otoño del primer año, en las dunas embrionarias de “El Dosser” (Tabla 3.3). *A. arenaria* se encontró en todas las localidades a excepción de “El Perelló” así como en el ecotono (tan solo en “Sant Antoni”) y las dunas móviles. En cuanto a *O. maritimus* se encontró en “La Garrofera” y “El Dosser” en el ecotono y las dunas móviles así como en “Les Palmeres” en las dunas móviles. *E. spinosa* se encontró en las dunas móviles de todas las localidades a excepción de “Les Palmeres” así como también se encontró en el ecotono de “El Dosser”, “Sant Antoni” y “Burguera”.

Tabla 3.3. Número de muestras analizadas por localidad y especie vegetal en cada habitat. Dunas embrionarias (DE), Ecotono (E) y dunas móviles (DM). *Ef* (*E. farctus*); *Aa* (*A. arenaria*), *Om* (*O. maritimus*), *Es* (*E. spinosa*).

| Localidad      | DE        |           | E         |           |           | DM        |           |           |           |
|----------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
|                | <i>Ef</i> | <i>Ef</i> | <i>Aa</i> | <i>Om</i> | <i>Es</i> | <i>Ef</i> | <i>Aa</i> | <i>Om</i> | <i>Es</i> |
| “La Garrofera” | 40        | 40        | 0         | 40        | 0         | 40        | 40        | 40        | 40        |
| “El Perelló”   | 40        | 40        | 0         | 0         | 0         | 40        | 0         | 0         | 40        |
| “Les Palmeres” | 40        | 40        | 0         | 0         | 0         | 40        | 40        | 40        | 0         |
| “El Dosser”    | 35        | 40        | 0         | 40        | 40        | 40        | 40        | 40        | 40        |
| “Sant Antoni”  | 40        | 40        | 40        | 0         | 40        | 40        | 40        | 0         | 40        |
| “Burguera”     | 40        | 40        | 0         | 0         | 40        | 40        | 40        | 0         | 40        |

En cuanto a la floración de las distintas especies vegetales (Tabla 3.4), cabe destacar que *E. farctus* y *A. arenaria* florecieron en primavera mientras que *E. spinosa* y *O. maritimus* en verano. *E. farctus* nunca floreció en las dunas embrionarias.



Tabla 3.4. Floración (\*) para cada especie vegetal (*Ef*: *E. farctus*; *Aa*: *A. arenaria*; *Om*: *O. maritimus*; *Es*: *E. spinosa*) según localidad (P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”), hábitat (DE: dunas embrionarias; E: ecotono; y DM: dunas móviles), estación y año.

| Site      |   |
|-----------|---|
| P1        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |
| P2        | <i>Ef*</i> , <i>Es*</i>                           |
| P3        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i>              |
| P4        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |
| P5        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Es*</i>              |
| P6        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Es*</i>              |
| Hábitat   |   |
| DE        | <i>Ef</i>   |
| E         | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |
| DM        | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |
| Estación  |   |
| Otoño     | <i>Ef</i> , <i>Aa</i> , <i>Om</i> , <i>Es</i>     |
| Invierno  | <i>Ef</i> , <i>Aa</i> , <i>Om</i> , <i>Es</i>     |
| Primavera | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om</i> , <i>Es</i>   |
| Verano    | <i>Ef</i> , <i>Aa</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i>   |
| Año       |   |
| 2014/2015 | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |
| 2015/2016 | <i>Ef*</i> , <i>Aa*</i> , <i>Om*</i> , <i>Es*</i> |

En la Tabla suplementaria S1 se presenta el listado de las variables paisajísticas utilizadas junto con sus abreviaturas y en el Anexo III se muestran imágenes de cada localidad en distintos períodos 1956-2015 así como la composición florística de cada localidad.

### 3.2.4. Selección de variables climáticas y paisajísticas

En las Tablas suplementarias S 2-3 se muestran los valores de correlación de Spearman de las variables paisajísticas y climáticas, respectivamente. Las variables climáticas y paisajísticas seleccionadas

fueron: precipitación total (TotalPrec); número de días con lluvia (nPrec); promedio de la temperatura media diaria (Tmed); desviación típica de la Tmed (SDTmed); promedio de la temperatura máxima diaria - promedio de la temperatura mínima diaria (Tmax-Tmin); promedio de la racha diaria de viento (Racha); racha máxima de viento (RachaMax); racha mínima de viento (RachaMin); floración de *E. farctus*, *A. arenaria*, *O. maritimus* y *E. spinosa* (Floración); dunas fijas con *Crucianelletum maritimae* Br.-Bl. 1933 al menos desde 1956 (VEG\_DF\_1956); crecimiento positivo del ecotono y dunas móviles sin intervención humana (C\_EDM); ancho del ecotono sin restauración desde 1956 (A\_E\_1956); ancho de dunas móviles restauradas (A\_R\_DM); ancho dunas móviles sin restauración desde 1956 (A\_DM\_1956); ancho dunas fijas sin restaurar desde el año 1956 (A\_DF\_1956); y ancho de dunas fijas restauradas entre 2010-2014 (A\_DF\_2010-2014).

### 3.2.5. Categorización de variables paisajísticas seleccionadas

Todas las variables paisajísticas seleccionadas fueron categorizadas del siguiente modo: dunas fijas con *Crucianelletum maritimae* Br.-Bl. 1933 al menos desde 1956 (VEG\_DF\_1956). Dos categorías: SÍ / NO; crecimiento positivo del ecotono y dunas móviles sin intervención humana (C\_EDM). Dos categorías: SÍ / NO. En cuanto a la variable “ancho del ecotono sin restauración desde 1956 (A\_E\_1956)”, debido a que en todas las localidades el ancho del ecotono, independientemente de la edad de su suelo, fue reducida (<20m) se procedió a su categorización dándole importancia a la edad del suelo. Por ello se renombró del siguiente modo: antigüedad del ecotono (Edad\_E). Dos categorías: restauración entre 2004-2014, RECIENTE; sin restauración desde, como mínimo, 1956: ANTIGUO. Por otro lado, la variable “ancho de dunas móviles restauradas (A\_R\_DM)” se renombró del siguiente modo: dunas móviles restauradas (R\_DM): Dos categorías: SÍ/NO. Las otras variables categorizadas fueron: ancho dunas móviles sin restauración desde 1956 (A\_DM\_1956). Tres categorías. = 0m, AUSENCIA; = 0-10m, ESTRECHO; y = 10-60m, ANCHO; ancho dunas fijas sin restaurar desde el año 1956 (A\_DF\_1956): Tres categorías, = 0m, AUSENCIA; > 0-20m, ESTRECHO; = 110-120m, ANCHO; y ancho de dunas fijas restauradas entre 2010-2014 (A\_DF\_2010-2014). Dos categorías: =0m, AUSENCIA; > 0-10m, PRESENCIA.

### 3.3. Frecuencia y abundancia relativa de esporas de HMA

Las variables seleccionadas por el procedimiento gradual AIC bajo los modelos binomial (ZIB) y Poisson (ZIP) GLM incluyen: hábitat, localidad, especie de planta, estación, temperatura máxima - mínima (Trange),  $\log_{10}CE$ , ráfaga de viento media diaria (Racha) y pH (Tabla 3.5). El modelo ZIB mostró efectos significativos de la localidad, el hábitat, la estación, las especies de plantas y Trange en la frecuencia de las esporas de HMA ( $p < 0.01$ , Tabla 3.5).

Tabla 3.5. Resumen de efectos fijos para el modelo de ceros inflados sin interacciones para analizar la frecuencia de esporas de HMA (ZIB) y la abundancia relativa de esporas de HMA (ZIP) en muestras de suelo y submuestras, respectivamente. Los términos del modelo se nombran utilizando las abreviaturas de variables de la Tabla suplementaria S1. También se proporcionan los coeficientes no estandarizados (Estimación) con sus intervalos de confianza del 95% (IC del 95%), el Error estándar (SE) y su estadístico Z (Z) y los valores P (P). No se muestran las categorías de referencia para las variables nominales (es decir, Ecotono para el hábitat, Burguera (P6) para la localidad, *E. farctus* (*Ef*) para las especies de plantas y Otoño para la estación). DE, dunas embrionarias, DM, dunas móviles; P1: “La Garrofera”, P2: “El Perelló”, P3: “Les Palmeres”, P4: “El Dosser”, P5: “Sant Antoni”; *Aa* (*A. arenaria*), *Om* (*O. maritimus*), *Es* (*E. spinosa*); Tmax-Tmin: Promedio de la temperatura máxima diaria - promedio de la temperatura mínima diaria; Racha: ráfaga de viento media diaria.

| Parte modelo | Nombre Variable      | Estimado  | SE       | Z      | P            |
|--------------|----------------------|-----------|----------|--------|--------------|
| ZIB          | Intersección         | -1.899242 | 2.094015 | -0.907 | 0.364414     |
|              | DE                   | 1.833.525 | 0.223643 | 8.198  | 2.44e-16 *** |
|              | DM                   | -1.093537 | 0.157638 | -6.937 | 4.01e-12 *** |
|              | P4                   | 1.401177  | 0.220370 | 6.358  | 2.04e-10 *** |
|              | P2                   | 0.766665  | 0.261727 | 2.929  | 0.003398**   |
|              | P1                   | 0.941860  | 0.239734 | 3.929  | 8.54e-05***  |
|              | P3                   | 1.729.496 | 0.261979 | 6.602  | 4.07e-11***  |
|              | P5                   | -0.209520 | 0.229772 | -0.912 | 0.361841     |
|              | <i>Aa</i>            | 0.333421  | 0.206084 | 1.618  | 0.105686     |
|              | <i>Om</i>            | -0.343973 | 0.207059 | -1.661 | 0.096667     |
|              | <i>Es</i>            | 0.555417  | 0.180774 | 3.072  | 0.002123**   |
|              | Primavera            | -1.092302 | 0.300534 | -3.635 | 0.000278***  |
|              | Verano               | -0.146015 | 0.403434 | -0.362 | 0.717404     |
|              | Invierno             | -0.145018 | 0.434553 | -0.334 | 0.738592     |
|              | Tmax-Tmin            | 0.195211  | 0.070520 | 2.768  | 0.005637**   |
|              | log <sub>10</sub> CE | 0.001786  | 0.265716 | 0.007  | 0.994636     |
|              | Racha                | 0.004637  | 0.044261 | 0.105  | 0.916556     |
|              | pH                   | -0.081509 | 0.210081 | -0.388 | 0.698026     |

|     |                      |           |          |        |             |
|-----|----------------------|-----------|----------|--------|-------------|
| ZIP | Intersección         | 1.592259  | 0.624001 | 2.552  | 0.010720*   |
|     | DE                   | -0.227294 | 0.107088 | -2.122 | 0.033796*   |
|     | DM                   | 0.112055  | 0.046124 | 2.429  | 0.015122*   |
|     | P4                   | -0.253821 | 0.066507 | -3.816 | 0.000135*** |
|     | P2                   | -0.157963 | 0.076017 | -2.078 | 0.037710*   |
|     | P1                   | -0.334603 | 0.066977 | -4.996 | 5.86e-07*** |
|     | P3                   | -0.550193 | 0.088098 | -6.245 | 4.23e-10*** |
|     | P5                   | -0.114719 | 0.056003 | -2.048 | 0.040515*   |
|     | <i>Aa</i>            | -0.073726 | 0.053809 | -1.370 | 0.170638    |
|     | <i>Om</i>            | 0.154186  | 0.064530 | 2.389  | 0.016878*   |
|     | <i>Es</i>            | -0.185238 | 0.051512 | -3.596 | 0.000323*** |
|     | Primavera            | 0.177104  | 0.091805 | 1.929  | 0.053715    |
|     | Verano               | 0.092950  | 0.092950 | 0.775  | 0.438305    |
|     | Invierno             | 0.166336  | 0.166336 | 1.282  | 0.199904    |
|     | Tmax-Tmin            | -0.004685 | 0.018960 | -0.247 | 0.804831    |
|     | log <sub>10</sub> CE | -0.060471 | 0.090644 | -0.667 | 0.504690    |
|     | Racha                | -0.015679 | 0.012497 | -1.255 | 0.209604    |
|     | pH                   | 0.055703  | 0.063196 | 0.881  | 0.378088    |

---

\*Significant P <0.05; \*\* Significant P <0.01; \*\*\*Significant P <0.001.

La frecuencia de esporas de HMA fue significativamente mayor en “Sant Antoni” (70.7%) y “Burguera” (67.9%) que en las otras localidades, según el modelo ZI ( $p < 0.01$ , Tabla 3.5 y Fig. 3.39 A). Además, se encontró una frecuencia significativamente mayor de esporas de HMA (70.9%) en las dunas móviles en comparación con el ecotono y las dunas embrionarias (70.9%, 42.0% y 16.1% de frecuencia de esporas para las dunas móviles, el ecotono y las dunas embrionarias, respectivamente,  $p < 0.001$ , Tabla 3.5 y Fig. 3.39 B). En primavera se presentó una mayor frecuencia de esporas de HMA (64.9%,  $p < 0.001$ ) que en otoño (51.0%), invierno (54.3%) o verano (55.1%) (Fig. 3.39 C). En relación con las especies de plantas, el modelo ZIB mostró diferencias significativas en la frecuencia de las esporas de HMA entre *E. farctus* y *E. spinosa* ( $p < 0.01$ , Tabla 3.5). Además, Trange se correlacionó negativamente con la frecuencia de las esporas de HMA ( $p = 0.006$ , datos no mostrados).

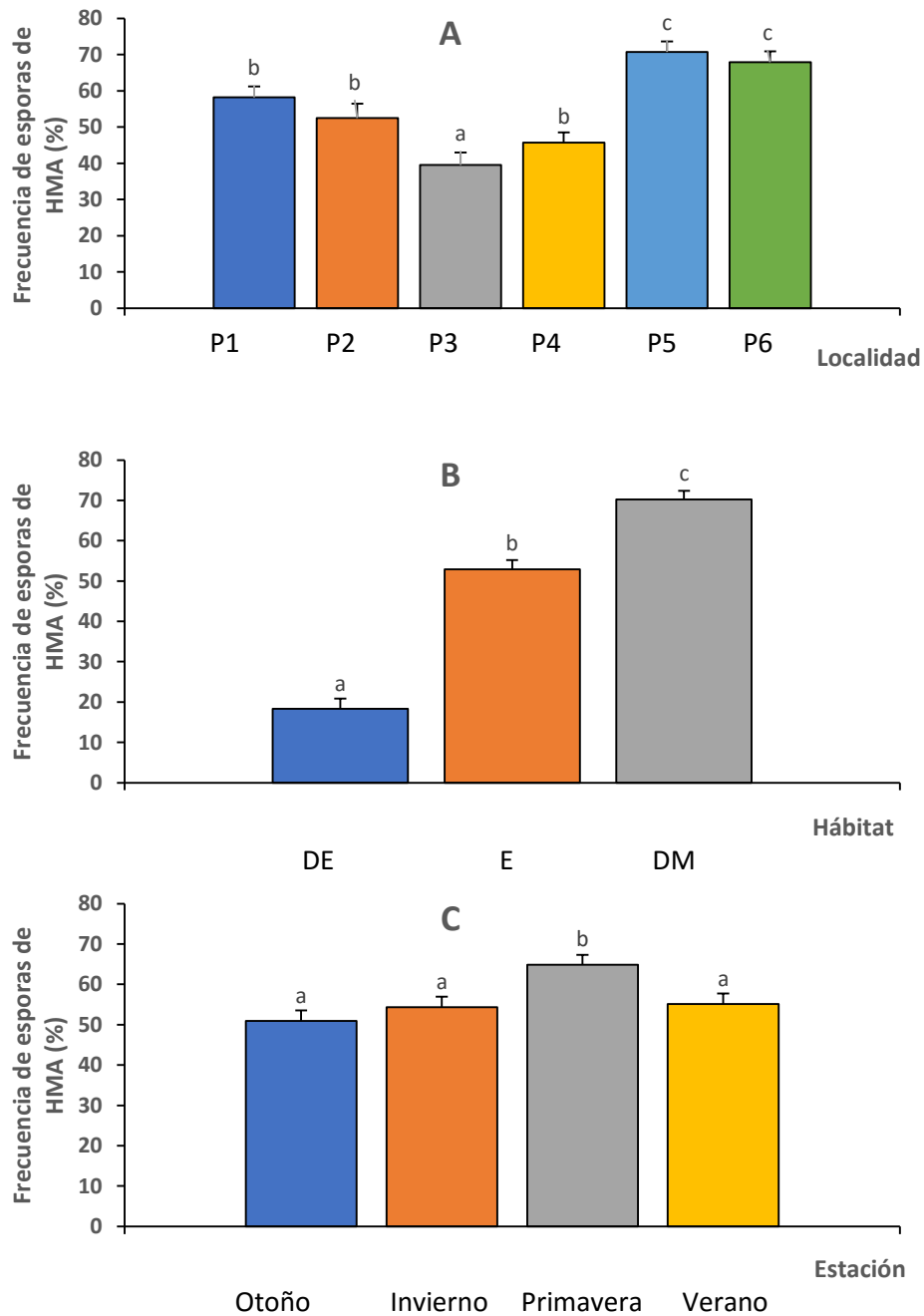


Figura 3.39. Frecuencia de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando todas las especies vegetales. P1, “La Garrofera” (n=280); P2, “El Perelló” (n=160); P3, “Les Palmeres” (n=200); P4, “El Dosser” (n=315); P5, “Sant Antoni” (n=280); y P6, “Burguera” (n=240). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=480); y DM, dunas móviles (n=760). Otoño (n=365); Invierno (n=370); Primavera (n=370); y Verano (n=370). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras. Para cada variable, las columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según la prueba de Tukey.

El efecto de las especies vegetales en la frecuencia de HMA se estudió en las dunas móviles (el hábitat más propenso a albergar las esporas de HMA) de cada localidad y se describe en la Fig. 3.40 A-F. En “La Garrofera” y “El Dosser”, se encontraron HMA con frecuencias similares en todas las especies vegetales, excepto en “La Garrofera” donde se encontró una disminución en la frecuencia de HMA

asociada a *E. spinosa* (42.5 vs 75.0-90.0% frecuencias asociadas a *E. spinosa* o a las otras especies de plantas, respectivamente. Fig. 3.40 A y D). En “El Perelló” y “Les Palmeres” *E. farctus* tuvo mayor frecuencia de esporas de HMA (72.5% y 70%, respectivamente) que las otras especies de plantas (25-52.5%, Figuras 3.40 B y C). Finalmente, en “Sant Antoni” y “Burguera” se encontró una frecuencia similar de esporas de HMA en cada especie de planta (más del 70%, Fig. 3.40 E y F).

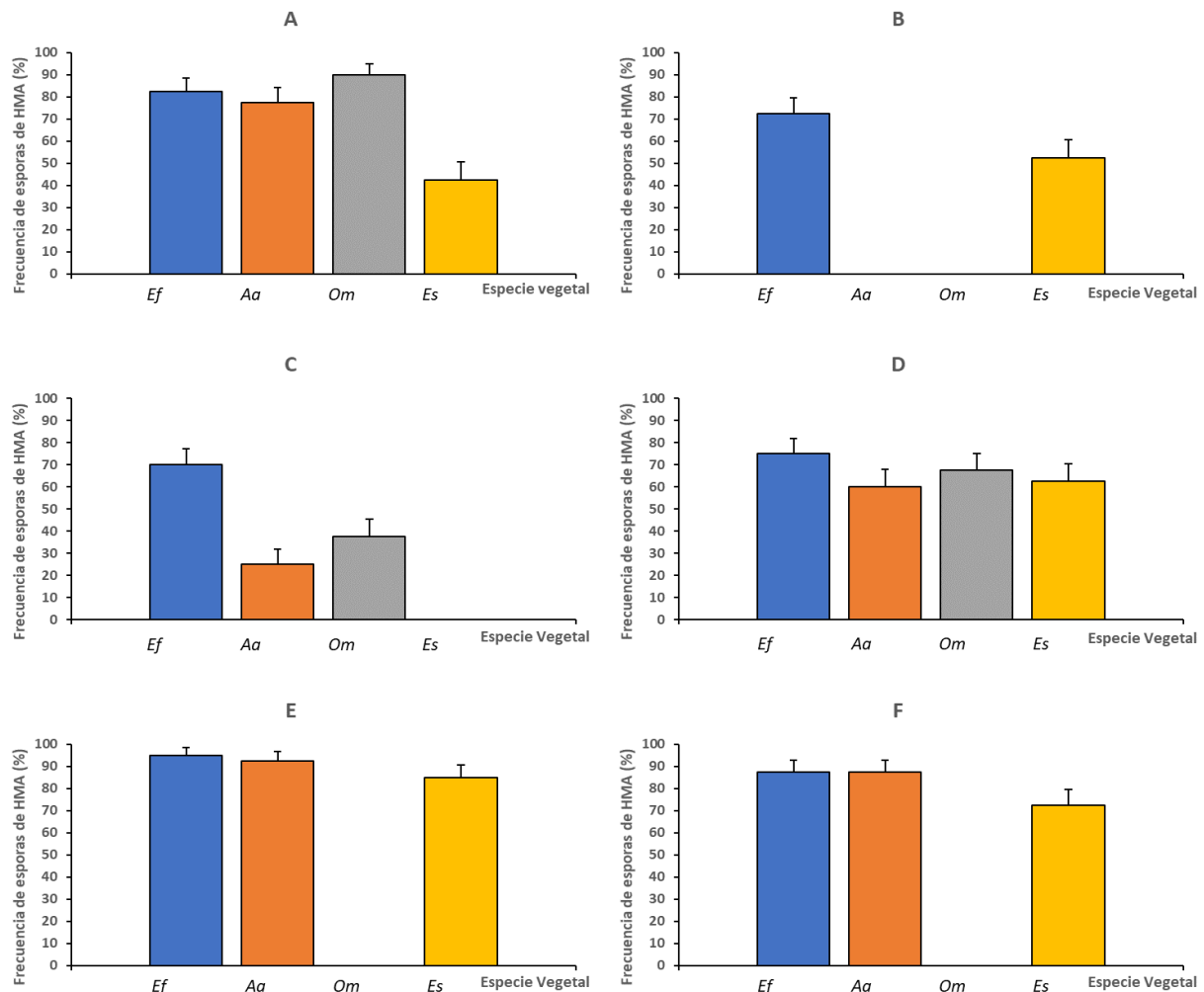


Figura 3.40. Frecuencia de esporas de HMA (%) en cada especie vegetal en las dunas móviles de cada localidad. A) “La Garrofera”; B) “El Perelló”; C) “Les Palmeres”; D) “El Dosser”; E) “Sant Antoni”; y F) “Burguera”. *Elymus farctus* (*Ef*); *Ammophila arenaria* (*Aa*); *Otanthus maritimus* (*Om*); y *Echinophora spinosa* (*Es*). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de 40 muestras.

No todas las especies de plantas se encontraron en todas las localidades de muestreo y hábitats; por lo tanto, para evitar una interpretación engañosa, también se estudió la frecuencia de HMA en la rizosfera de *E. farctus*, la única especie presente en todas las localidades y hábitats muestreados. Aunque el patrón de las frecuencias de HMA fue similar al descrito anteriormente, hubo ligeras

diferencias en el efecto de las localidades y hábitats (Fig. 3.39 A y B y en material suplementario Fig. S1 A y B).

El modelo ZIP que explica la abundancia relativa de las esporas de HMA incluyó las siguientes variables significativas: hábitat, localidad y especie de planta ( $p < 0.05$ , Tabla 3.5). Como no todas las submuestras contenían esporas de HMA, los valores fueron más bajos que los descritos anteriormente para la frecuencia de HMA, pero con un patrón similar (consultar Anexo IV). Comparando todos los hábitats con el ecotono, las muestras de dunas embrionarias tenían una abundancia relativa de HMA significativamente menor, mientras que las dunas móviles tenían mayor abundancia ( $p < 0.05$ , Tabla 3.5; Fig. A4.1B). Comparando todas las localidades con “Burguera”, todas las otras localidades, especialmente “El Dosser” ( $p < 0.001$ ), “La Garrofera” ( $p < 0.001$ ) y “Les Palmeres” ( $p < 0.001$ ) mostraron una abundancia relativa de esporas de HMA significativamente menor que “El Perelló” ( $p = 0.038$ ) y “Sant Antoni” ( $p = 0.040$ ) (Tabla 3.5; Fig. A4.1A).

Al comparar todas las especies de plantas con *E. farctus*, los resultados del modelo ZIP mostraron que la abundancia relativa de HMA fue significativamente mayor en las muestras de *O. maritimus* ( $p = 0.017$ , Tabla 3.5) y menor en las muestras asociadas con *E. spinosa* ( $p < 0.001$ , Tabla 3.5). El patrón de la abundancia relativa de HMA de *A. arenaria* no difirió significativamente de *E. farctus* ( $p = 0.170$ , Tabla 3.5).

#### 3.4. Frecuencia y abundancia relativa de especies de HMA

Como se ha comentado anteriormente, se identificaron un total de 10 especies de HMA, pertenecientes a 3 familias y 8 géneros. Los datos sobre la frecuencia de cada especie de HMA en cada localidad, hábitat y estación se presentan en la Fig. 3.41 A-C. La familia Gigasporaceae incluyó 4 especies de 3 géneros (*Racocetra papillosa*, *R. sicanica*, *Cetraspora sucrosa* y *Scutellospora deformata*); la familia Diversisporaceae incluyó 3 especies pertenecientes a 2 géneros (*Diversispora aurantia*, *Diversispora valentina* y *Corymbiglomus corymbiforme*) al igual que la familia Glomeraceae con especies pertenecientes a 3 géneros (*Glomus ibericum*, *Funneliformis pillosus* y *Septoglomus mediterraneum*).

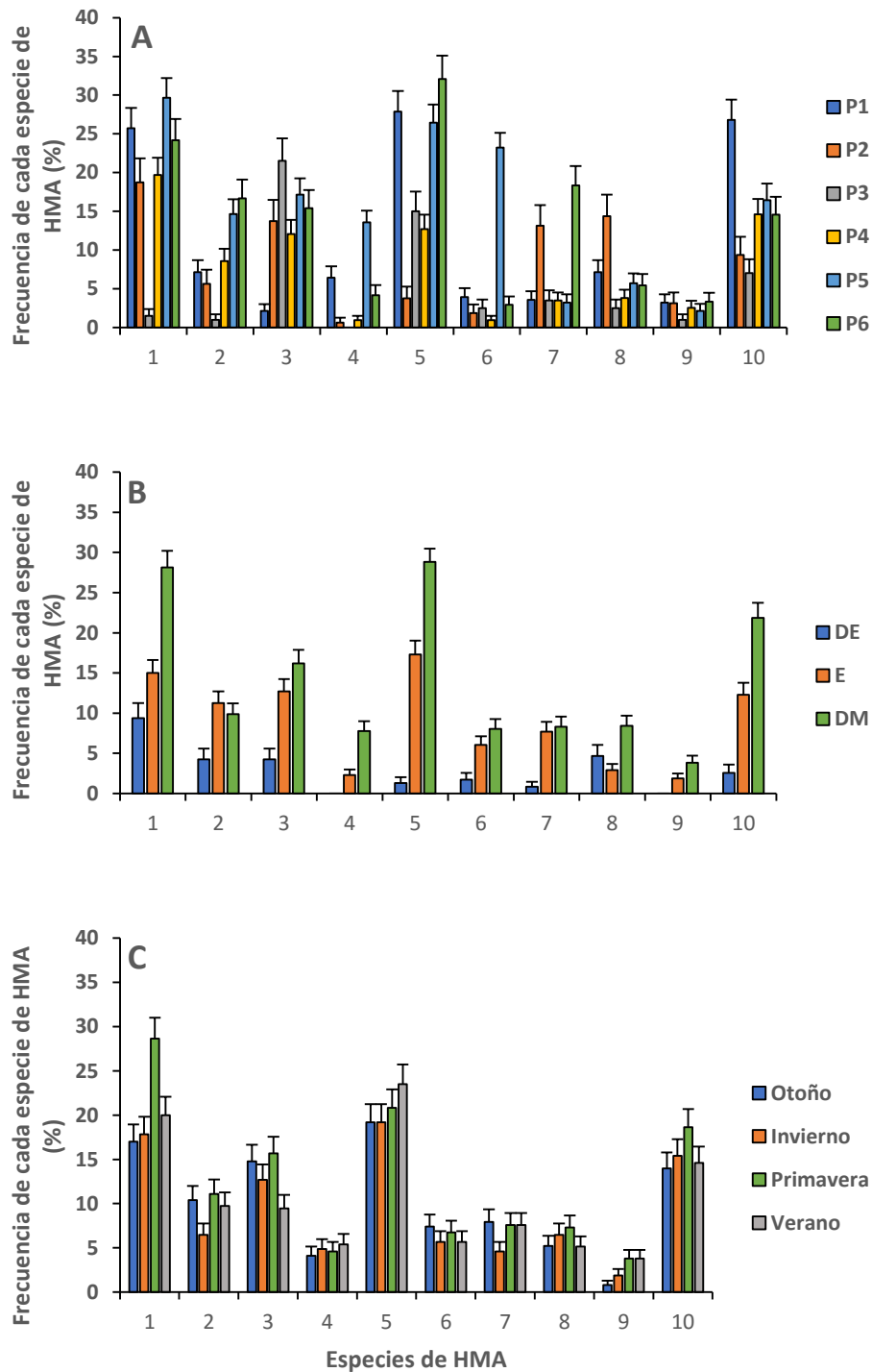


Figura 3.41. Frecuencia de cada especie de HMA (%) en cada sitio (A), hábitat (B) y estación (C) considerando todas las especies vegetales. P1, “La Garrofera” (n=280); P2, “El Perelló” (n=160); P3, “Les Palmeres” (n=200); P4, “El Dosser” (n=315); P5, “Sant Antoni” (n=280); y P6, “Burguera” (n=240). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=480); y DM, dunas móviles (n=760). Otoño (n=365); Invierno (n=370); Primavera (n=370); y Verano (n=370). Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbiglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.



La frecuencia de cada especie de HMA en cada localidad, hábitat y estación se detalla en la Fig. 3.41 A-C. En general, las especies dominantes en estos hábitats fueron *D. aurantia*, *R. papillosa* y *S. mediterraneum*. Por el contrario, las frecuencias de *G. ibericum* nunca fueron más del 7% (Fig. 3.41 A-C). La frecuencia de todas las especies de HMA dependió fuertemente de la localidad de muestreo, excepto para *G. ibericum* (Figura 3.2.7.1 A) que tenía frecuencias similares en todas las localidades. *D. aurantia* presentaba la frecuencia más baja en “Les Palmeres”; *D. valentina* fue encontrada con mayor frecuencia en “Burguera” y “Sant Antoni”; *Co. corymbiforme* se presentó con mayor frecuencia en “Les Palmeres”; *C. sucrosa* y *R. sicanica* tuvo las frecuencias más altas en “Sant Antoni”; *R. papillosa* tuvo mayor frecuencia en “Burguera”; *Sc. deformata* tuvo la frecuencia más alta en “Burguera” y “El Perelló”; *F. pillosus* se encontró con mayor frecuencia en “El Perelló”; y *S. mediterraneum* fue más frecuente en “La Garrofera” (Fig. 3.41 A).

En relación con el hábitat, la frecuencia de todas las especies de HMA aumentó en las dunas móviles, excepto para *D. valentina* que presentó cierta preferencia por el ecotono. *C. sucrosa* y *G. ibericum* no se encontraron en las dunas embrionarias (Fig. 3.41 B). Todas las especies de HMA se encontraron en cada estación pero en la primavera aumentó la frecuencia de HMA principalmente para *D. aurantia* (Fig.3.41C).

La relación entre las plantas y las especies de HMA se estudió, para cada localidad, en las dunas móviles ya que era su hábitat preferido. La frecuencia de cada especie de HMA en cada planta y localidad se representa en la Fig. 3.42 A-F. *E. farctus* se asoció principalmente con *D. aurantia*, *Sc. deformata* y *F. pillosus* en “El Perelló”; a *Co. corymbiforme*, *R. papillosa* y *S. mediterraneum* en “Les Palmeres” y a *D. aurantia* y *S. mediterraneum* en “El Dosser”. *A. arenaria* se asoció principalmente con *Co. corymbiforme* y *S. mediterraneum* en “Sant Antoni” y *R. papillosa* en “Burguera”. *O. maritimus* se asoció principalmente con *R. papillosa* en “La Garrofera” y “El Dosser”. *E. spinosa* se asoció principalmente con *Co. corymbiforme* en “El Dosser” y “Burguera” y con *D. aurantia* en “Sant Antoni” (Fig. 3.42 A-F). La frecuencia de las especies de HMA en la rizosfera de *E. farctus*, la única especie presente en todas las localidades y hábitats muestreados, se presenta en la Fig. S2 A-C del material suplementario. Aunque el patrón de las frecuencias de las especies de HMA fue similar al descrito anteriormente, hubo ligeras diferencias en el efecto de las localidades y hábitats (Fig. 3.41 A y B y Fig. S2 A y B suplementaria). La interacción entre todos los factores estudiados en la composición de la comunidad HMA se muestra en la Fig. 3.43.

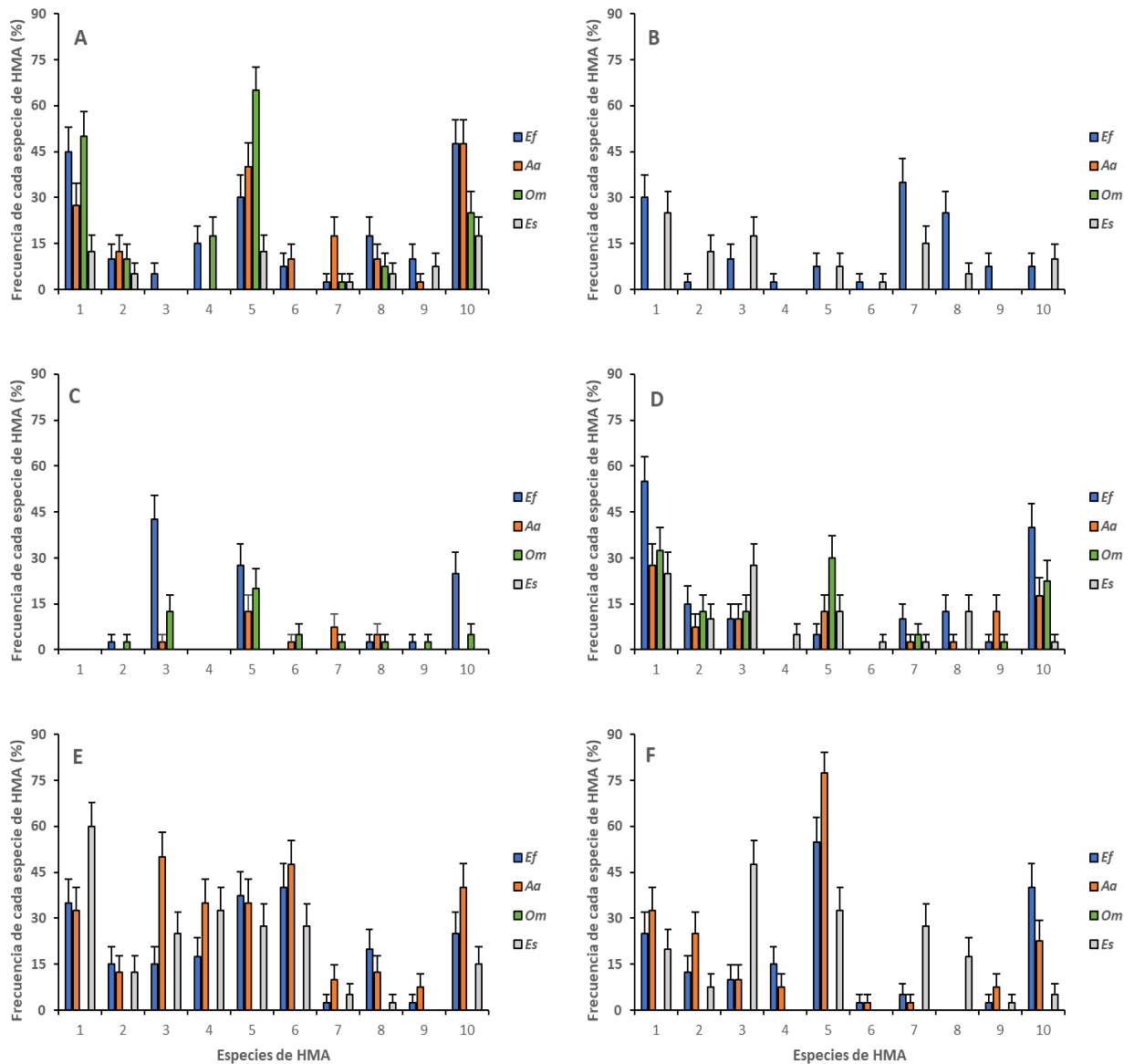


Figura 3.42. Frecuencia de cada especie de HMA (%) en cada especie vegetal en las dunas móviles de cada localidad. A) “La Garrofera”; B) “El Perelló”; C) “Les Palmeres”; D) “El Dosser”; E) “Sant Antoni”; y F) “Burguera”. Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbiglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de 40 muestras.

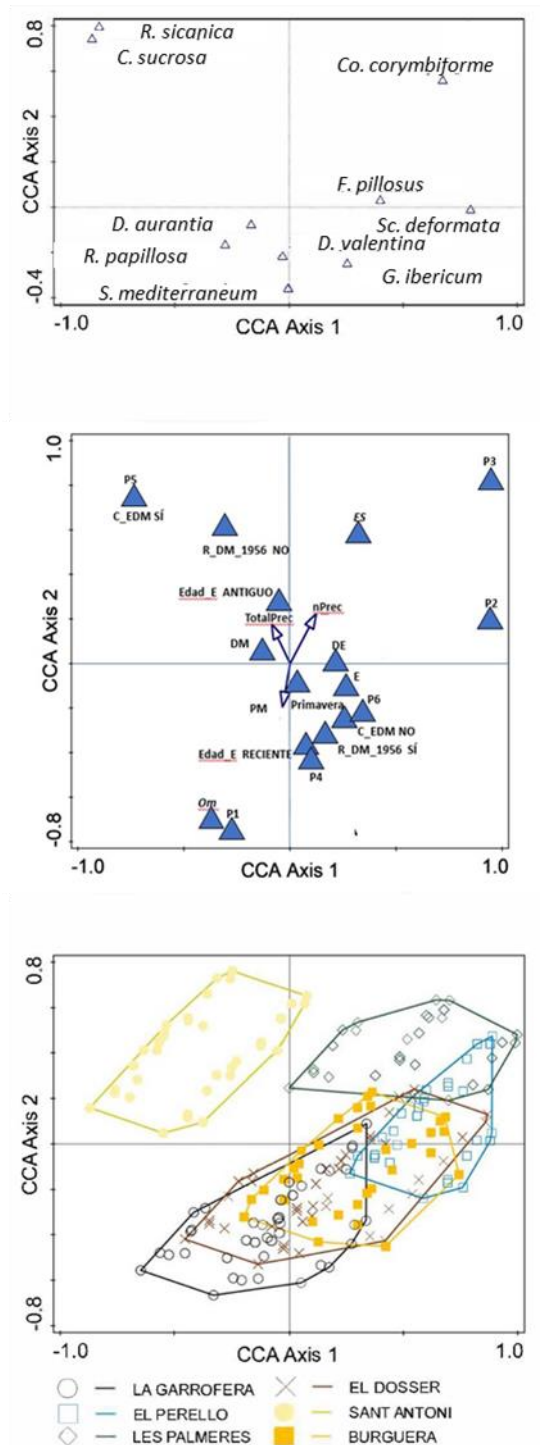


Figura 3.43. Resultados del análisis de correspondencia canónica (CCA). Ordenación de cada especie de HMA; variables significativas; y muestras seleccionadas en los primeros dos ejes. Los códigos de las variables pueden consultarse en la Tabla suplementaria S1.

Debido a que el patrón de la frecuencia y abundancia relativa de las especies de HMA fue muy similar y, atendiendo a que los datos cuantitativos son más idóneos para detectar patrones que los cualitativos como la frecuencia (ver sección 2.11 del Material y Métodos) se procedió a la modelización

de la abundancia relativa de las especies de HMA (ver Figs. A4.3-4 A-C en Anexo IV). El Análisis de correspondencia canónica (CCA) fue significativo ( $p < 0.05$ ) y explicó más del 10% de la variación en la abundancia relativa de las especies de HMA ( $R^2_{Adj} = 0.109$ ). Juntos, los dos primeros ejes del CCA explicaron el 6.8% de la variación de la comunidad de HMA, siendo ambos significativos ( $p < 0.05$ ). De acuerdo con un procedimiento de selección directa, las variables que explicaron significativamente la variación observada fueron: crecimiento natural histórico de las dunas de arena (C\_EDM); localidad de muestreo (Localidad); antigüedad del ecotono según se hayan realizado trabajos de restauración desde 1956 o no (Edad\_E); dunas móviles restauradas (R\_DM); Hábitat; período de muestreo (PM); estación; número de días lluviosos (nPrec); y precipitación total (TotalPrec).

Según el gráfico de ordenación (Fig. 3.43), la fuente más importante de variación de la comunidad se relacionó con la mayor frecuencia de *C. sucrosa* y *R. sicana* asociadas al crecimiento natural de las dunas y vegetación antigua, sin restaurar. Esta condición tan solo se encuentra en “Sant Antoni”; en el otro extremo del primer eje del CCA, *Co. corymbiforme* se asoció principalmente con *E. spinosa* o “Les Palmeres”, y *Sc. deformata* y *F. pillosus* con “Burguera” y “El Perelló”, así como con el ecotono y las dunas embrionarias, respectivamente. En un patrón menos claro y más cerca de la parte central del primer eje, pero con valores negativos, otras especies de HMA (*D. aurantia*, *R. papillosa*, *D. valentina*, *G. ibericum* y *S. mediterraneum*) se asociaron con vegetación restaurada y dunas móviles. *D. aurantia* también estuvo asociada con el tiempo y la primavera. Finalmente, *S. mediterraneum* se relacionó principalmente con “La Garrofera” y *O. maritimus* (Fig. 3.43).

#### 4. DISCUSIÓN

En este trabajo se ha estudiado y determinado la composición y variación de los HMA asociados a cuatro especies vegetales características de las dunas embrionarias y móviles (tipos de hábitat de interés comunitario 2110 y 2120, respectivamente) mediterráneas ubicadas en el Golfo de Valencia (España).

Se han identificado, atendiendo a su morfología y al análisis filogenético utilizando la región SSU-ITS1-5.8S-ITS2-LSU del ADNr así como con parte de la región LSU, un total de 10 especies de HMA. De acuerdo con estos análisis, las secuencias de los morfotipos 4 y 6 fueron coincidentes con las asignadas a *Co. corymbiforme* y *D. aurantia* (ver sección 3.1.4 y 6, respectivamente) mientras que el resto de las especies no han sido descritas hasta el momento. Estos resultados son respaldados tanto por el método de “Maximum Likelihood” como el de “Neighbour-Joining”, ambos ampliamente utilizados en la realización de árboles filogenéticos en general (Fernández-Mazuecos et al. 2013; Lobon et al. 2016) y en particular para los HMA (Oehl et al. 2010; Crossay et al. 2018).

Los cultivos puros correspondientes a las poblaciones de *Co. corymbiforme* y *D. aurantia* encontradas en este estudio presentaron diferencias morfológicas, en algunos casos muy acusadas (Tablas 4.1-2, respectivamente), en relación a las descripciones tipo realizadas por Błaszowski (1995) y Błaszowski et al. (2004). De hecho, la L3 de la pared esporal de las poblaciones estudiadas de *Co. corymbiforme* fue más del doble de lo ya descrito aunque el tamaño de las esporas así como el de los “agregados” en el caso de *Co. corymbiforme* (Błaszowski, 1995) se mantuvo dentro del mismo rango que la descripción tipo. También se mantuvieron en el rango la macro y microestructura previamente descrita por los autores originales en relación al número de láminas, forma de la hifa portadora, modo de organización de las esporas (libres o en agregados), color de las paredes, etc. Estos resultados apoyan la evidencia existente acerca de las limitaciones en la identificación taxonómica basada únicamente en caracteres morfológicos (Krüger et al. 2009; Stockinger et al. 2009; Kaonongbua et al. 2010; Morton y Msiska, 2010; Schüßler y Walker, 2010; Oehl et al. 2011).

Tabla 4.1. Comparación entre el diámetro de los agregados (A), esporas regulares (RE), las láminas de la pared esporal (L1, L2 y L3), ancho de la hifa portadora en la base de la espora (HP) y grosor de la pared de la hifa portadora (PHP) entre la descripción del tipo nomenclatural (Tipo) y la de los cultivos puros (CP) de *Co. corymbiforme* obtenidos en este estudio.

| Población | A (μm)  | RE (μm) | L1 (μm) | L2 (μm)  | L3 (μm) | HP (μm)   | PHP (μm) |
|-----------|---------|---------|---------|----------|---------|-----------|----------|
| Tipo      | 180-490 | 50-220  | 0.7-1.7 | 3.9-10   | 0.5-1.2 | 9.8-31.1  | 2.2-13.7 |
| CP1,2 y 5 | 202-455 | 76-204  | 0.7-2.5 | 6.4-17.1 | 0.9-3.0 | 18.4-46.0 | 2.6-7.6  |

Tabla 4.2. Comparación entre el diámetro de las esporas regulares (RE), las láminas de la pared esporal (L1, L2 y L3), ancho de la hifa portadora en la base de la espora (HP) y grosor de la pared de la hifa portadora (PHP) entre la descripción del tipo nomenclatural (Tipo) y la de los cultivos puros (CP) de *D. aurantia* obtenidos en este estudio.

| Población | RE (μm) | L1 (μm) | L2 (μm)  | L3 (μm) | HP (μm)  | PHP (μm) |
|-----------|---------|---------|----------|---------|----------|----------|
| Tipo      | 70-120  | 0.7-1.5 | 2.7-8.8  | 0.5-1.3 | 3.2-11.8 | 0.7-4.7  |
| CP1,2 y 5 | 80-120  | 0.8-1.8 | 3.3-11.1 | 0.6-1.5 | 5.3-8.6  | 1.2-2.0  |

#### Nuevos táxones descritos en este trabajo

En esta sección se exponen las diferencias encontradas en los nuevos táxones descritos en este trabajo respecto a las especies de HMA filogenéticamente relacionadas.

*Glomus ibericum* se encuentra en el mismo clado que *G. aggregatum* y *G. macrocarpum* (Figs. 3.4-5). Tanto *G. ibericum* como las otras especies presentaron esporocarpos, las esporas fueron amarillas y presentaron una pared esporal compuesta por 2 láminas (Shenck y Smith, 1982; Berch y Fortin, 1983; Koske, 1985). Sin embargo, los esporocarpos de *G. ibericum* jamás superaron los 500 μm de Ø mientras que los de las otras especies superaron los 2000 μm de Ø (Shenck y Smith, 1982; Berch y Fortin, 1983; Koske, 1985). Por otro lado, *G. ibericum* presentó una L2 de 2.5-12.4 μm de ancho mientras que en *G. aggregatum* el máximo fue de 5 μm de grosor (Koske, 1985). En cuanto a la siguiente especie más próxima, *G. tetrastratosum* presentó claras diferencias respecto a *G. ibericum* y las anteriores especies ya que no presentó esporocarpos, sus esporas regulares alcanzaron más de 200 μm de Ø y su pared esporal estuvo compuesta por 4 láminas (Błaszowski et al. 2015a).

*Funneliformis pillosus* se encuentra dentro del mismo clado que *F. coronatus* (Figs. 3.8-9). Sin embargo, *F. pillosus* presenta una L1 y L2 de 1.1-11.5 y 6.1-13.2 μm de grosor, respectivamente; mientras que en *F. coronatus* L1 y L2 varían entre 2.3-4.6 y 2.3-6.9 μm de grosor, respectivamente (Giovanetti et al. 1991). Respecto a las otras especies relacionadas filogenéticamente con *F. pillosus* (*F. mosseae* y *F. caledonius*) de nuevo son fácilmente diferenciables de ésta. En *F. mosseae* L1 y L2 van de 2-7 μm de grosor y *F. caledonius* presenta una hifa portadora de hasta 15 μm de ancho en la base

de la espora (Gerdemann y Trappe, 1974) mientras que en *F. pillosus* L1 y L2 puede superar los 10  $\mu\text{m}$  de grosor y la hifa portadora tiene un mínimo de 30  $\mu\text{m}$  de ancho en la base de la espora.

*Septoglomus mediterraneum* se encuentra filogenéticamente relacionado con *S. jasnowskiae* (Figs. 3.12-13). Sin embargo, morfológicamente, son bastante distintos. *S. jasnowskiae* se presenta, normalmente, en agregados (Błaszowski et al. 2014) mientras que *S. mediterraneum* en forma de esporas aisladas. El tamaño máximo de las esporas de forma regular de *S. jasnowskiae* (98  $\mu\text{m}$ ) corresponde al mínimo de *S. mediterraneum*, pudiendo superar esta especie los 180  $\mu\text{m}$  de diámetro. La pared esporal de *S. mediterraneum* se constituye en 3 láminas, mientras que la de *S. jasnowskiae* en 2 (Błaszowski et al. 2014). Además, el grosor de las láminas 1 y 2 en *S. mediterraneum* va de 0.8-6.6 y 7.4-22.3  $\mu\text{m}$  de grosor, respectivamente; mientras que en *S. jasnowskiae* va de 0.8-2 y 1.3-5  $\mu\text{m}$  de grosor, respectivamente (Błaszowski et al. 2014). Por otro lado, el ancho de la hifa portadora en la base de la espora puede alcanzar casi 30  $\mu\text{m}$  en *S. mediterraneum* mientras que en *S. jasnowskiae* no llega a los 15  $\mu\text{m}$  (Błaszowski et al. 2014).

Respecto a la comparación morfológica de *S. mediterraneum* con las otras especies afines, debe decirse que, al igual que *S. turnauae* Błasz., Chwat & Ryszka (Błaszowski et al. 2014) es muy difícil de distinguir de *S. altomontanum* Palenz., Oehl, Azcón-Aguilar & G.A. Silva, *S. constrictum* (Trappe) Sieverd., G.A. Silva & Oehl., *S. furcatum* Błasz., Chwat, Kovács & Ryszka y *S. titan* B.T. Goto & G.A. Silva cuando se observan sus esporas en estereoscopio. Sin embargo, cuando se rompen y se estudian las láminas de la pared esporal pueden advertirse diferencias en el grosor de L1 y L2 de la pared esporal. Por ejemplo, en *S. xanthium*, *S. furcatum*, *S. fuscum* y *S. altomontanum* L1 no supera los 3  $\mu\text{m}$  de grosor (Błaszowski et al. 2004; Błaszowski et al. 2013; Palenzuela et al. 2013), mientras que en *S. mediterraneum* supera los 6  $\mu\text{m}$ . En cuanto a *S. turnauae* y *S. constrictum* L2 no supera los 15  $\mu\text{m}$  de grosor (Trappe, 1977; Błaszowski et al. 2014) mientras que en *S. mediterraneum* puede llegar a superar los 20  $\mu\text{m}$ . Todos estos resultados junto con los análisis moleculares apoyan la independencia taxonómica propuesta de esta especie.

*Diversispora valentina* presenta una posición filogenética desconocida (Figs. 3.20-21), aunque está relacionada con *D. jakucsiae*, *D. arenaria*, *D. slowinskiensis*, *D. eburnea*, *D. celata*, *D. sabulosa*, *D. spurca*, *D. arenaria*, *D. clara*, *D. insculpta*, *D. aurantia*, *D. varaderana* y *D. versiformis*. Sin embargo, morfológicamente se diferencia claramente de todas ellas atendiendo, por ejemplo, a que *D. valentina* tiene una pared esporal compuesta por 3 láminas (L1-L3) mientras que *D. sabulosa*, *D. insculpta*, *D. varaderana*, *D. versiformis* y *D. eburnea* tienen 2 (L1-L2) (Berch y Fortin, 1983; Kennedy et al. 1999; Błaszowski et al. 2004; Błaszowski et al. 2015b; Symanczik et al. 2018). Además, la L1 de *D. aurantia*, *D. clara*, *D. arenaria* y *D. celata* es hialina (Błaszowski et al. 2001; Błaszowski et al. 2004; Gamper et

al. 2009; Estrada et al. 2011) o, en el caso de *D. spurca* varia de hialina a muy pálida (Pfeiffer et al. 1996) mientras que en *D. valentina* es de color oscuro (marrón café). El resto de especies relacionadas con *D. valentina* que presentan una L1 coloreada son *D. slowinskiensis* y *D. jakucsiiae* (Błaszowski et al. 2015b; Balázs et al. 2015). *D. jakucsiiae* presenta una L1 con un grosor que no alcanza los 2  $\mu\text{m}$  además de poseer una L1 amarillenta en esporas maduras (Balázs et al. 2015) mientras que la L1 de *D. valentina* puede llegar a alcanzar los 4  $\mu\text{m}$  de grosor y, tal como ya se ha dicho, es marrón-café. Finalmente, *D. valentina* tiene una L2 coloreada (naranja claro en su madurez) así como una L3 que no alcanza 2  $\mu\text{m}$  de grosor mientras que en *D. slowinskiensis* L2 es hialina y L3 puede llegar a 10  $\mu\text{m}$  de grosor (Błaszowski et al. 2015b). El hecho de que *D. valentina* forme sus esporas en esporocarpos (además de libres en el suelo) también la diferencia de todas las especies citadas anteriormente.

*Cetraspora sucrosa* presenta una posición filogenética desconocida (Figs. 3.26-27), aunque está relacionada con *C. helvetica*, *C. nodosa*, *C. gilmorei* y *C. pellucida*. Todas estas especies presentan esporas hialinas o blancas al menos en etapas juveniles. (Gerdermann y Trappe, 1974; Koske y Walker, 1986a; Błaszowski 1991; Oehl et al. 2010). Sin embargo, solo *C. helvetica* y *C. nodosa* presentan la L1 de la pared esporal ornamentada (Błaszowski 1991; Oehl et al. 2010;) mientras que *C. pellucida*, *C. gilmorei* y *C. sucrosa* tienen la L1 lisa (Gerdermann y Trappe, 1974; Koske y Walker, 1986a; sección 3.1.7). *C. sucrosa* presenta un grosor de L1 comprendido entre 1.0-2.0  $\mu\text{m}$ , al igual que *C. pellucida* (Koske y Walker, 1986a), mientras *C. gilmorei* hasta 1  $\mu\text{m}$  (Gerdermann y Trappe, 1974). Finalmente, en *C. sucrosa* el contenido citoplasmático de la espora se vuelven de color amarillo ocre (al igual que el escudo de germinación) mientras que en *C. gilmorei* y *C. pellucida* es hialino o gris pálido, respectivamente (Gerdermann y Trappe, 1974; Koske y Walker, 1986a). Tal y como puede apreciarse, morfológicamente *C. sucrosa*, *C. gilmorei* y *C. pellucida* son muy próximas.

*Scutellospora deformata* se encuentra en el mismo clado que un aislado de parte de la subunidad larga del ADNr (LSU) nombrado como *Sc. calospora* según Amarasinghe y Morton (GenBank: FJ461865.1) (Figs. 3.29-39). Sin embargo, su relación filogenética con el material tipo de *Sc. calospora* (GenBank: AJ510231.1) es menor que si lo comparamos con el anterior aislado (Figs. 3.29-30). Según el Código Internacional de Nomenclatura para Algas, Hongos y Plantas (Turland et al. 2018) el material tipo tiene prevalencia sobre cualquier otro material referido a un mismo nombre. Por tanto, en este trabajo se considera que el nombre de *Sc. calospora* asignado por Amarasinghe y Morton no es adecuado ya que se separa del material tipo de *Sc. calospora* si nos fijamos en la filogenia (Figs. 3.29-30). Además, según la información en el GenBank (GenBank: FJ461865.1) este aislado se obtuvo a partir del material de *Sc. calospora* del centro INVAM (<https://invam.wvu.edu>). Según esta entidad, el material nominado como *Sc. calospora* (número de referencia AU221) presenta una L2 de 1.8-4.2  $\mu\text{m}$  de grosor así como una coloración de L1 y L2 en esporas maduras de amarillo pálido con un tinte verde mientras que *Sc.*



*deformata* tiene un rango de grosor para L2 de 4.6-14.0  $\mu\text{m}$  y con L1 y L2 de color hialino y amarillo pastel, respectivamente. Respecto al material tipo de *Sc. calospora* (Koske y Walker, 1986a) es muy similar en lo que respecta al grosor de L2 (3-5  $\mu\text{m}$ ) y coloración de L1 y L2 (hialina y amarillo pálido, respectivamente) en su madurez con el material del INVAM (referencia de cultivo AU221) aunque de nuevo bastante diferente con *Sc. deformata* (4.6-14.0  $\mu\text{m}$ ). Sin embargo, cuando comparamos el tamaño de las células esporógenas vemos como *Sc. deformata* tiene un diámetro de 37-83  $\mu\text{m}$ , *Sc. calospora* típica de 33-48  $\mu\text{m}$  y *Sc. calospora* (AU221) de 22-28  $\mu\text{m}$ . Por todo lo expuesto, este trabajo sugiere una revisión taxonómica del material del INVAM (AU221) por parte de la autoridad competente en el citado centro o, en su defecto, por quien requiera ese material. Por otro lado, *Sc. dipurpurescens* presenta una L1 de 3-5  $\mu\text{m}$  de ancho y amarilla (Morton y Koske, 1988) mientras que *Sc. deformata* de 0.8-1.7  $\mu\text{m}$  y hialina. Finalmente, las esporas de *Sc. deformata* son de color amarillo pastel (excepcionalmente se han observado formas albas) mientras las de *Sc. calospora*, *Scutellospora* sp. y *Sc. dipurpurescens* nunca alcanzan esa intensidad de color (Koske y Walker, 1986a; Morton y Koske, 1988).

*Racocetra sicanica* y *R. papillosa* presentan una posición filogenética desconocida (Figs. 3.32-33 y Figs. 3.35-36, respectivamente) aunque están relacionadas con *R. verrucosa*, *R. tropicana*, *R. coralloidea*, *R. gregaria*, *R. castanea*, *R. weresubiae*, *R. persica* y *R. fulgida*. Morfológicamente *R. sicanica* puede agruparse con *R. tropicana*, *R. castanea*, *R. weresubiae* y *R. fulgida* puesto que todas ellas presentan una L1 lisa mientras que *R. papillosa* se agrupa con *R. verrucosa*, *R. coralloidea*, *R. gregaria* y *R. persica* por presentar una L1 ornamentada. *R. sicanica* presenta una L1 hialina al igual que *R. tropicana*, *R. weresubiae* y *R. fulgida* (Goto et al. 2011; Koske y Walker, 1986a) mientras que en *R. castanea* es marrón (Walker et al. 1993). Sin embargo, *R. sicanica* presenta una L2 marrón café mientras que en *R. weresubiae* y *R. fulgida* rosa y hialina, respectivamente (Koske y Walker, 1986a). Además, en *R. sicanica* la L1 tiene 1.2-2.6  $\mu\text{m}$  de grosor y en *R. weresubiae* y *R. fulgida* no supera 1.0  $\mu\text{m}$  (Koske y Walker, 1986a). Finalmente, *R. sicanica* tiene la L2 y L3 de 4.5-15.7 y 1.1-2.5  $\mu\text{m}$  de grosor, respectivamente, y sus esporas pueden llegar a superar los 450  $\mu\text{m}$  de largo; mientras que en *R. tropicana* L2 y L3 son de 3.0-6.5  $\mu\text{m}$  y 0.8-1.3  $\mu\text{m}$  de grosor, respectivamente, y sus esporas no superan los 300  $\mu\text{m}$  de largo (Goto et al. 2011).

*R. papillosa* presenta papilas de 0.3-7.1  $\mu\text{m}$  de diámetro y L3 de 1.0-3.3  $\mu\text{m}$  de ancho, mientras que en *R. persica* las papilas nunca superan los 3  $\mu\text{m}$  de diámetro (Koske y Walker, 1985) y en *R. verrucosa* L3 va de 0.5-1.0  $\mu\text{m}$  grosor. Finalmente, en *R. papillosa* la célula esporógena va de 40.5-109.0  $\mu\text{m}$  de ancho y la pared de ésta puede llegar a alcanzar 4.9  $\mu\text{m}$  de grosor mientras que en *R. coralloidea* y *R. gregaria* la célula esporógena nunca supera los 80  $\mu\text{m}$  de ancho y los 4  $\mu\text{m}$  de grosor para la pared (Gerdemann y Trappe, 1974; Nicolson y Schenk, 1979).

Respecto al porqué se han obtenido cultivos puros de unas especies de HMA (*F. pillosus*, *S. mediterraneum*, *Co. corymbiforme*, *D. aurantia* y *D. valentina*) y de otras no (*G. ibericum*, *C. sucrosa*, *R. papillosa*, *R. sicanica* y *Sc. deformata*), debe comentarse que en la literatura hay numerosos ejemplos de especies de HMA que, hasta el momento, no han podido ser reproducidas fuera de su ambiente natural. Además, llama la atención de que muchas de estas especies pertenecen a la familia Gigasporaceae (ej.: Walker et al. 1998; Goto et al. 2011). Esto podría ser debido, entre otros factores, a la dependencia para la germinación de sus esporas de factores biológicos del suelo tales como bacterias u otros hongos (Azcón-Aguilar et al. 1986; Azcón, 1987; Hildebrandt et al. 2002). La principal razón de porqué se han obtenido cultivos puros tan solo con *T. repens* se atribuye a que las otras especies utilizadas (*S. pungens*, *O. maritimus* y *A. porrum*) enraizaron tan solo de forma parcial y no se desarrollaron correctamente.

Los cultivos puros de HMA obtenidos en este trabajo pueden servir para iniciar otras líneas de investigación. En éstas, por ejemplo, podrían plantearse ensayos en los que especies vegetales utilizadas en la restauración dunar (ej.: *Euphorbia paralias* L.) se inoculasen con estos HMA y, posteriormente, se midiese su supervivencia en campo. Hay múltiples evidencias de los beneficios para las plantas cuando éstas se inoculan con HMA nativos (Tchabi et al. 2010; Pellegrino et al. 2011; Middleton et al. 2015).

Por otro lado, se analizó a modo descriptivo la composición química del suelo en las dunas móviles de cada localidad (Anexo I). Podemos ver que “La Garrofera” destacó por su contenido en Mn, Fe y Zn; “Burguera” por su contenido en Na y Mg; “Les Palmeres” por su bajo contenido en Fe; y, finalmente, “El Dosser”, seguido por “Sant Antoni”, presenta un alto contenido en Ca (Figs. A1.1-3). Todas tuvieron en común un bajo contenido en P y Cu (<75 y <0.5 mg/Kg, respectivamente). Dicho esto, estudios llevados a cabo en condiciones controladas ponen de manifiesto de que distinta composición química del suelo, por ejemplo considerando el Zn o el Fe (Dutt et al. 2013; Thougnon et al. 2016), puede afectar a la esporulación de los HMA. Sin embargo, también se ha mostrado que diferencias de composición del suelo no influyen en la esporulación de los HMA (Rodríguez-Echeverría et al. 2008). Por tanto, es difícil cuantificar el efecto de la característica composición química de cada localidad en la esporulación de los HMA encontrados en este estudio. Probablemente uno de los motivos por lo que es difícil de cuantificar tal efecto sea por que el número de réplicas para los análisis es bajo tanto para este estudio (n=3) como para otros (n=4; Rodríguez-Echeverría et al. 2008; n=1; Błaszczkowski y Czerniawska, 2011).

No obstante, sí podemos comparar la composición química con otras dunas móviles estudiadas como por ejemplo las de Inglaterra, Gales, Países bajos, Portugal (Rodríguez-Echeverría et al. 2008) y

Dinamarca (Błaszowski y Czerniawska, 2011). En todas estas el contenido en P (el Cu no fue analizado) siempre fue superior a 5 mg/Kg en contraste a los valores de este estudio (<0.5 mg/Kg); en cuanto al Mg el valor máximo se alcanzó en Gales con >250mg/Kg mientras que en el presente estudio el valor mínimo se presentó en “Sant Antoni” con poco más de 760 mg/Kg y el máximo en “Burguera” con cerca de 3600 mg/Kg. Respecto al K en ninguna de las localidades muestreadas previamente (Rodríguez-Echeverría et al. 2008; Błaszowski y Czerniawska, 2011) se alcanzaron 100 mg/Kg mientras que en el presente estudio el mínimo fue de >2800 mg/Kg. En cuanto al Na, considerando el estudio en el que se analizó (Rodríguez-Echeverría et al. 2008), nunca se superaron los 250 mg/Kg mientras que en el presente estudio tuvo un rango de, aproximadamente, 820-3300 mg/Kg. En cuanto al Ca, el presente estudio mostró un rango de, aproximadamente, 1900-7000 mg/Kg mientras que el de Rodríguez-Echeverría et al. (2008) estuvo entre, aproximadamente, 1400-9600 mg/Kg. Por todo lo expuesto, las diferencias de composición química del suelo que, en general, muestran las localidades de estudio respecto a otras localidades donde se ha inventariado la diversidad de HMA (ej.: Błaszowski y Czerniawska, 2011), podrían ser uno de los factores que explicarían la característica composición de HMA encontrada.

El alto número de táxones no descritos previamente a este trabajo (8/10) puede ser debido, fundamentalmente, a que no existen estudios precedentes en el área de estudio, a que los hábitats estudiados son extremadamente selectivos (Gracia et al. 2009a,b) y a la posibilidad de que en trabajos de otras localidades donde se presentan los mismos hábitats (ej.: Camprubí et al. 2010) la nomenclatura de las especies de HMA encontradas no haya sido precisa. Al mismo tiempo, el número total de especies de HMA encontrado (10) concuerda con los resultados del único estudio realizado en las dunas móviles de España (Camprubí et al. 2010) donde se encontraron 7 especies. Por otro lado, el presente estudio reveló que los factores ambientales y la dinámica temporal desempeñaron un papel en la frecuencia y distribución de las esporas de HMA y la diversidad de sus especies en las dunas del Golfo de Valencia. Las esporas de HMA mostraron una amplia distribución en todos los hábitats muestreados, pero su probabilidad de ocurrencia siguió un gradiente de menor a mayor desde la línea costera hasta el interior (mínimo en dunas embrionarias, intermedio en el ecotono y máximo en dunas móviles) (Fig. 3.39B, Tabla 3.5). Las alteraciones antrópicas y naturales disminuyeron a lo largo del gradiente del hábitat, siendo más altas en las dunas embrionarias y más bajas en las dunas móviles, lo que puede explicar las diferencias en la frecuencia y abundancia relativa de esporas de HMA que se encuentran en cada hábitat. De hecho, la perturbación natural (inundación por agua de mar) y antrópica (retirada de la vegetación) en las dunas embrionarias afectó a la supervivencia y al ciclo vital de las especies de plantas (Tablas 3.3-4) y, en consecuencia, se encontraron pocas raíces finas (Tabla 3.1) y esporas de HMA (Figs. 3.39B y A4.1B). Otros factores, como la CE y el pH (Tabla 3.5), aunque

característicos de cada hábitat y localidad, no afectaron a la frecuencia y abundancia relativa de las esporas de HMA como se demostró en los modelos ZIB y ZIP (Tabla 3.5). Otros estudios en dunas litorales de Brasil y Japón (Córdoba et al. 2001; Funatsu et al. 2005, respectivamente) corroboran el efecto hábitat en la esporulación de los HMA. Por el contrario, en México, Ramos-Zapata et al. (2011) no encontraron diferencias en las esporas de HMA en diferentes hábitats de dunas litorales.

La localidad de muestreo fue uno de los factores más importantes para explicar la distribución de esporas de HMA (Fig. 3.39 A, Tabla 3.5). A pesar de los efectos espaciales puros, se sugiere que las diferencias entre las localidades pueden estar estrechamente relacionadas con los rasgos ambientales y los historiales de perturbaciones particulares relacionados con cada localidad. Por ejemplo, se encontró que la frecuencia de esporas de HMA y la abundancia relativa total considerando todas las especies de plantas (Fig. 3.39A, Fig. A4.1 A y Tabla 3.5) o solo *E. farctus* (Figs. S1 A y A4.5 A) fueron siempre más bajas en "Les Palmeres" o "El Dosser". Estas playas han sufrido un proceso reciente de restauración de vegetación y suelo (CEDEX, 2015) en el año 2010 y 2011 (Figs. A3.3-4), respectivamente. También hay evidencias sobre un efecto negativo de la perturbación del suelo sobre los HMA en otros sistemas (Johnson, 1993; Błaszowski, 1993b; Helgason et al. 1998; Jansa et al. 2002). En "El Perelló" y "La Garrofera", la frecuencia y abundancia relativa de esporas de HMA fueron siempre más altas que en "Les Palmeres" o "El Dosser" (Figs. 3.39A, S1A, A4.1A y A4.5A). A pesar de la erosión marina en el 2004 (Figs. A3.1-6), la falta de programas de restauración en "El Perelló" puede explicar los niveles de HMA en esta localidad. En "La Garrofera" se llevaron a cabo restauraciones de suelo y vegetación en el año 2014 (CEDEX, 2015; Fig. A3.1) en el ecotono y parcialmente en dunas móviles. Sin embargo, hubo una importante extensión de dunas fijas con suelos y vegetación antigua. El suelo antiguo en ambas localidades ("El Perelló" y "La Garrofera") podría contribuir a que la frecuencia y abundancia relativa de esporas de HMA fuese más alta que en "Les Palmeres" y "El Dosser". La mayor frecuencia de esporas de HMA y la abundancia relativa encontrada en "Burguera" y "Sant Antoni" pueden estar relacionadas con que el suelo y la vegetación del ecotono en "Burguera" o en todos los hábitats de "Sant Antoni" sean de 1956 (Figs. A3.5-6). Además, ambas localidades tenían una CE relativamente baja (un indicador del contenido de sal) que podría aumentar las frecuencias de HMA y las abundancias relativas (Evelin et al. 2009; Estrada et al. 2013a; Bencherif et al. 2016). Finalmente, tal y como se muestra en la sección 3.2.2., las diferencias climáticas fueron muy reducidas por lo que se consideró que las diferencias de esporulación de HMA no estuvieron influidas por la climatología de cada localidad.

Al considerar el efecto de las especies de plantas en la frecuencia de esporas de HMA (modelo ZIB, Tabla 3.5), se encontraron diferencias significativas entre *O. maritimus* y *E. spinosa*, pero no entre las dos gramíneas *E. farctus* y *A. arenaria*. Estas plantas tienen una estructura y funcionamiento de raíz

similar, y probablemente otros rasgos relacionados con la filogenia que podrían generar similitudes en la frecuencia y abundancia relativa de HMA. Hay evidencias de la influencia de la planta huésped en la esporulación de HMA (Pearson et al. 1993; Eom et al. 2000; Su et al. 2011; Kawahara y Ezawa, 2013; Pagano et al. 2013; Soteras et al. 2016).

En contraste con los hallazgos de Alves et al. (2001) en Brasil, y de Beena et al. (2000a) en la costa este de India, en este trabajo se observaron variaciones estacionales en la frecuencia de HMA, lo que está de acuerdo con la fuerte variación estacional de la densidad de esporas registrada por otros autores (Sigüenza et al. 1996; Beena et al. 2000b; Rodríguez -Echeverría et al. 2008; Rodríguez-Zapata et al. 2011). Sin embargo, es importante señalar que en este estudio todas las especies de HMA se encontraron en cada estación, como también informaron Bencherif et al. (2016) en otro estudio bajo clima mediterráneo. El aumento en la frecuencia de esporas de HMA y la abundancia relativa en la primavera podría deberse a un aumento en el promedio de la temperatura media ( $T_{med}$ ) y la luz en comparación con el invierno (Tabla 3.1). Tal y como se muestra en las Figs. A2.1-18 las otras variables climáticas siguieron la misma tendencia. Es bien sabido que las temperaturas del suelo y del aire, así como la luz, afectan tanto al crecimiento de la planta como a la esporulación de los HMA (Schenck et al. 1975; Daniels y Trappe, 1980; Koske, 1987; Torres-Arias et al. 2017). Otra variable que tuvo un efecto significativo en la frecuencia de esporulación de HMA fue el promedio de la temperatura máxima diaria- promedio de la temperatura mínima ( $T_{max}-T_{min}$ ) que, en este estudio, fue mayor en el primer año de muestreo ( $9.38^{\circ}C$ ) que en el segundo ( $8.56^{\circ}C$ ) (Fig. A2.9). La correlación negativa entre  $T_{max}-T_{min}$  y la frecuencia de esporas de HMA en estos sistemas naturales (dunas litorales) puede deberse a diferencias en las temperaturas diurnas y nocturnas. El efecto de la temperatura en la actividad de algunos HMA ha sido demostrado en otros estudios (Heinemeyer y Fitter, 2004; Gavito et al. 2005). También el promedio de la temperatura máxima diaria-promedio de la temperatura media diaria ( $T_{max}-T_{med}$ ) y el promedio de la temperatura mínima diaria-promedio de la temperatura media diaria ( $T_{min}-T_{med}$ ) presentaron valores absolutos mayores en el primer año (Fig. A2.9). Sin embargo,  $T_{max}-T_{min}$  (así como  $T_{max}-T_{med}$  y  $T_{min}-T_{med}$ ) tuvieron los valores absolutos más altos en primavera (Fig. A2.9). Esta contradicción (en primavera se produce la máxima esporulación) podría ser explicada, en parte, debido al efecto indirecto de la intensidad luminosa en la micorrización. De hecho, intensidades de luz baja sobre las plantas provocan una baja actividad en la simbiosis HMA-Planta (micorrización) y altas intensidades lo contrario (Konvalinková et al. 2015).

La frecuencia y abundancia relativa de especies de HMA varió tanto espacial como temporalmente. Entre otras variables, la localidad de muestreo fue uno de los factores más importantes que explicaron la composición de HMA. A escala regional en este estudio, casi todas las especies se encontraron en cada localidad (excepto *C. sucrosa*, la cual no se encontró en "Les Palmeres", Figs. 3.41 A y A4.6 A), lo

que sugiere que tienen una buena capacidad de dispersión. Sin embargo, las comunidades difieren en la frecuencia de cada especie (Fig. 3.41 A).

Tres especies de HMA se asociaron claramente con una localidad específica, especie de planta y características del suelo según se muestra en la Fig. 3.43. Destacan dos gigasporáceas (*C. sucrosa* y *R. sicanica*) que están fuertemente relacionadas con "Sant Antoni", la única localidad estudiada donde ha habido un crecimiento positivo del ecotono y dunas móviles sin intervención humana (C\_EDM) desde, al menos, 1956 (CEDEX, 2015) (Fig. 3.43 y Fig. 3.37) Se sugiere que estas condiciones podrían ser responsables de la distribución de ambas especies de HMA en esta localidad. Hay evidencia del efecto positivo del suelo no alterado en la esporulación de HMA de la familia Gigasporaceae (Błaszowski, 1993a, Johnson, 1993, Giovannetti y Gianinazzi-Pearson, 1994; Helgason et al. 1998; Daniell et al. 2001; Jansa et al. 2002). Además, esta localidad tiene valores de CE muy bajos que indican que ambas especies de HMA pueden tener algún grado de sensibilidad a la sal.

Por el contrario, *Co. corymbiforme* se asoció con "Les Palmeres" (Fig. 3.43; Fig. 3.37), la localidad más perturbada, y con *Echinophora spinosa*. Esta localidad también se caracterizó por presentar la máxima CE (Tabla 3.1), lo que indica que *Co. corymbiforme* puede ser tolerante a altos niveles de salinidad. Todos los *Corymbiglomus* spp. (*Co. corymbiforme*, *Co. globiferum*, *Co. pacificum* y *Co. tortuosum*), descritos hasta la fecha, se han encontrado en dunas litorales u otros ecosistemas cercanos al mar o al agua salobre (Koske y Walker, 1986b; Koske, 1987; Błaszowski, 1995; Tadych y Błaszowski, 2000; Medina et al. 2014).

*S. mediterraneum* se asoció con "La Garrofera" y *O. maritimus* (Fig. 3.43). La diferencia entre "La Garrofera" y las otras localidades fue la presencia de un amplio cordón de dunas fijas con vegetación y suelo antiguos (Fig. 3.37; Cavanilles, 1795; Segarra y Bosco, 2014) así como por presentar una catena de vegetación típica de los ecosistemas dunares mediterráneos (Costa y Mansanet, 1981). Una prospección preliminar en las dunas fijas de "La Garrofera" muestra que *S. mediterraneum* presenta, al igual que en este estudio (Fig. 3.41 A), la máxima frecuencia comparado con los otros HMA encontrados (Ortega, 2018). Por tanto, la asociación de *S. mediterraneum* con "La Garrofera" puede ser debido a que existe, al menos, un amplio cordón de dunas fijas (>100m) con una frecuencia elevada de *S. mediterraneum*. Este hecho podría ser importante para la colonización de "La Garrofera" por parte de este HMA. Es interesante mencionar que *S. constrictum* es una especie que puede fácilmente confundirse con *S. mediterraneum*, el cual se ha encontrado en dunas marítimas ibéricas (Estrada et al. 2013b). Por tanto, se propone la revisión de este material.

*Sc. deformata* y *F. pillosus* estuvieron asociados a "Burguera" y "El Perelló" así como al ecotono y las dunas embrionarias, respectivamente (Fig. 3.41 A y Fig. 3.43). La especie más relacionada filogenética

y morfológicamente con *F. pillosus* es *F. coronatus*, una especie que fue descrita en dunas litorales (Giovanetti et al. 1991) de Italia. Sin embargo, *F. coronatus* también ha sido encontrado en dunas marítimas y saladares de España (Estrada et al. 2013b). En base a nuestros resultados, se propone la revisión de las poblaciones de *F. coronatus* de la península ibérica empleando técnicas moleculares (Krüger et al. 2009) para verificar tal identidad. De hecho, el autor de este trabajo tenía serias dudas en la identificación de *F. pillosus* y, atendiendo a un criterio conservador, adscribió en una primera aproximación esta especie a *F. coronatus* (Guillén et al. 2018). Sin embargo, análisis filogenéticos realizados posteriormente mostraron su independencia de *F. coronatus* (Fig. 3.8-9). Todo lo dicho anteriormente sugiere que ambas especies (*F. coronatus* y *F. pillosus*) presentan tolerancia a altos niveles de salinidad, lo que es compatible con la fuerte erosión marina (inundación por agua de mar) que ocurrió en “El Perelló” en el año 2004 (Fig. A3.2) así como, de forma estacional, en las dunas embrionarias. *Sc. deformata* se considera una especie tolerante a la salinidad ya que se asoció a “Burguera” (con bajos niveles de CE) y a “El Perelló” (con altos niveles de EC) (Fig. 3.43; Fig. 3.41 A; Tabla 3.1).

*D. aurantia*, *D. valentina*, *R. papillosa* y *G. ibericum* se asocian a localidades con un programa de restauración en su ecotono y / o dunas móviles (“El Dasser” y “Burguera”). Por lo tanto, se esperaría un aumento en estas especies con el tiempo (o período de muestreo), tal y como se muestra en la Fig. 3.43. De un modo similar a *F. pillosus*, *G. ibericum* se adscribió en una primera aproximación a *G. macrocarpum* (Guillén et al. 2018), la especie morfológicamente más próxima. Además, su distribución (presente pero con bajas frecuencias) en las localidades estudiadas (Fig. 3.41 A) fue muy similar a la de las poblaciones de *G. macrocarpum* de dunas litorales polacas (Błaszowski, 1993a,b,c; Błaszowski, 1994; Tadych y Błaszowski, 2000). Sin embargo, análisis filogenéticos posteriores mostraron que era un táxon independiente (Figs. 3.4-5). *G. macrocarpum* es un táxon ampliamente distribuido por todo el mundo, habiendo sido encontrado en Canadá (Berch y Fortin, 1984; Dalpé, 1989; Klironomos et al. 1993), China (Gai et al. 2006), España (Díaz et al. 1992) así como en hábitats naturales y antropogénicos (Iwaniuk y Błaszowski 2004a,b; Zubek et al. 2008) y en dunas marítimas españolas (Estrada et al. 2013b). Por otro lado, la especie ha sido incorrectamente identificada en varias ocasiones y en diferentes zonas geográficas (Berch y Fortin, 1983) (ej, Sur de Australia y Tasmania así como Florida) y, más concretamente, en los primeros estudios de este trabajo realizados únicamente con criterios morfológicos (Guillén et al. 2018). Por tanto, se propone la revisión del material de *G. macrocarpum* a nivel global y, específicamente, el material de dunas litorales españolas (Estrada et al. 2013b).

Algunas especies de HMA se asocian específicamente a determinadas plantas hospedadoras (Johnson et al. 1992, Yang et al. 2012; Hazard et al. 2013), por lo que el muestreo de plantas filogenéticamente

relacionadas podría minimizar los efectos de fuerzas bióticas (p. ej., comunidad de plantas, interacciones interespecíficas) en los resultados (Chaudhary et al. 2014). A pesar de estas diferencias observadas en la frecuencia de las especies de HMA entre las plantas (Fig. 3.42 A-F), debe observarse que todas las especies de HMA se encontraron en todas las especies de plantas, lo que concuerda con un enfoque basado en grupos funcionales y no en especies (Öpik et al. 2009; Chagnon et al. 2015). La falta de grandes diferencias cualitativas también podría estar relacionada con el hecho de que los HMA son un grupo especialmente tolerante para los hábitats costeros (Koske 1987, Dalpé 1989, Tadych y Błaszowski 2000, Rodríguez Echeverría y Freitas, 2006, Rodríguez Echeverría et al. 2008; Camprubí et al. 2010; da Silva et al. 2017a). Como se discutió anteriormente, los factores abióticos y bióticos y las propiedades intrínsecas de las especies de HMA (Chaudhary et al. 2014), así como la perturbación antropogénica (Öpik et al. 2016), podrían determinar qué especies podrían establecerse y dominar la comunidad.

Finalmente, cabe decir que este trabajo ha contribuido al conocimiento taxonómico de los HMA presentes en las dunas embrionarias y móviles (y el ecotono que se establece entre ambas) de parte del mediterráneo ibérico así como de establecer qué factores abióticos (ej.: hábitat, localidad, estación del año, presencia/ausencia de restauración, etc) y bióticos (especie vegetal) configuran la distribución de los HMA (Guillén et al. 2018). Este conocimiento podría usarse para plantear esfuerzos de restauración en dunas litorales mediterráneas, puesto que los restos de suelo y vegetación antiguos podrían ser importantes para algunas especies (por ejemplo, *C. sucrosa* y *R. sicana*) mientras que otras especies (por ejemplo, *Co. corymbiforme*) podrían colonizar hábitats recientemente restaurados o con elevados niveles de estrés (alta CE).



## 5. CONCLUSIONS

1. A total of 10 AMF species were identified, belonging to 3 families and 9 genera. Three Glomeraceae (*Funneliformis pillosus*, *Glomus ibericum* and *Septoglomus mediterraneum*), 3 Diversisporaceae (*Corymbiglomus corymbiforme*, *Diversispora aurantia* and *D. valentina*), and 4 Gigasporaceae (*Cetraspora sucrosa*, *Racocetra papillosa*, *R. sicanica* and *Scutellospora deformata*).
2. Eight out of the ten AMF species were reported as new taxa. *G. ibericum* was morphologically and molecularly related to *G. macrocarpum* and *G. aggregatum*; *F. pillosus* was morphologically and molecularly related to *F. coronatus*; *S. mediterraneum* was phylogenetically related to *S. jasnowskae*, although morphologically was related to *S. turnauae*, *S. altomontanum*, *S. constrictum*, *S. furcatum* and *S. titan*; *Sc. deformata* was phylogenetically and morphologically related to material belonging to sequence FJ461865.1. *D. aurantia*, *C. sucrosa*, *R. papillosa*, and *R. sicanica* displayed unknown phylogenetically position.
3. Morphological differences among the populations of *D. aurantia* and *Co. corymbiforme* and the nomenclatural type of each one along the Gulf of Valencia, suggest that these species have a high morphological variability.
4. Our results suggest that a large taxonomically review of the Spanish maritime sand dunes populations of *S. constrictum*, *G. macrocarpum* and *F. coronatus* should be addressed.
5. A germoplasm bank of *F. pillosus*, *S. mediterraneum*, *Co. corymbiforme*, *D. aurantia* and *D. valentina* has been obtained.
6. At the regional scale of our study, almost all species were found at each location (except for *C. sucrosa*, that was not found in “Les Palmeres”), suggesting good dispersal capabilities. Nevertheless, communities differed in the frequency of each AMF species.
7. All AMF species were found in all plant species in agreement with a functional group-based approach.
8. In mobile dunes (habitat 2120) there were higher probabilities of finding AMF spores than in the other habitats suggesting that these habitats are less stressed than the ecotone, and the embryonic dunes (habitat 2110).
9. Furthermore, our results suggest that the state of conservation of each location influences AMF spore frequency, as well as their relative abundance. For instance, in “Sant Antoni” and “Burguera” there were higher probabilities of finding spores than in the “Les Palmeres” location. “Sant Antoni” and “Burguera” locations present soil and vegetation since 1956,

meanwhile “Les Palmeres” has been restored recently; “Les Palmeres” was the location with less AMF spores reported in this study.

10. The probability of finding AMF spores among plant species correlated with plant families (*E. farctus* vs *O. maritimus*), and no differences were found between plant species from the same family (*E. farctus* vs *A. arenaria*). These evidences suggest that the plant species chosen for sampling in this study are important when a AMF community is studied.
11. Overall, our results suggest that spring was the best season for sampling because there were higher probabilities of finding AMF spores than in the other seasons. Environmental changes related to light and temperature in respect to winter might also affect AMF phenology.
12. The negative correlation between Trange (maximum daily temperature - minimum daily temperature) and frequency of AMF spores in the studied habitats may be due to differences in day-night temperatures.
13. *C. sucrosa* and *R. sicanica* were associated to “Sant Antoni” location with soil and vegetation without restoration, and with active sedimentation. This could indicate that such species need high levels of habitat conservation. Thus, “Sant Antoni” could be a genetic reservoir of these species.
14. *Co. corymbiforme* was associated to “Les Palmeres”, location recently restored and with high CE levels. These suggests that this AMF species can tolerate high stress conditions.
15. *S. mediterraneum* was associated to “La Garrofera”, the unique location with all coast-to-inland Mediterranean vegetation. That could indicate that *S. mediterraneum* has a good capacity to colonize from inland to coast habitats.
16. *F. pillosus* was associated to embryonic dunes and “El Perelló”; *Sc. deformata* was associated to ecotone and “Burguera”. Both species seem to tolerate high environmental stress (EC, sea flooding and high substrate mobility).
17. *D. aurantia*, *D. valentina*, *R. papillosa* and *G. ibericum* were associated with restored habitats and locations. Therefore, these species could have higher dispersion and colonization abilities than the other AMF species found.
18. Results from this thesis could be incorporated into restoration programs in Mediterranean sand dunes in the near future. According to our findings, old vegetation stands are important to some species (e.g. *C. sucrosa* and *R. sicanica*) of AMF, while other species (e.g. *Co. corymbiforme*) could colonize recently restored habitats.

## 6. BIBLIOGRAFÍA

Abbott, L.K., Robson, A.D., 1985. The effect of soil pH on the formation of vesicular arbuscular mycorrhizas by two species of *Glomus*. *Aust. J. Soil Res.* 23, 253–261.

Abbott, L.K., Robson, A.D., 1991. Factors influencing the occurrence of vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Agric. Ecosyst. Environ.* 35, 121–150.

Abbott, L.K., Robson, A.D., Hall, I.R., 1983. Introduction of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi into agricultural soils. *Aust. J. Agric. Res.* 34, 741–749.

AEMET. Agencia Estatal de Meteorología. Gobierno de España: <http://www.aemet.es> accessed: 19.12.2017.

Akiyama, K., Matsuzaki, K., Hayashi, H., 2005. Plant sesquiterpenes induce hypha branching in arbuscular mycorrhiza fungi. *Nature* 435, 824–827.

Alarcón, C., Cuenca, G., 2005. Arbuscular mycorrhizas in coastal sand dunes of the Paraguana Peninsula, Venezuela. *Mycorrhiza* 16, 1-9.

Alexander, T., Meier, R., Toth, E., Weber, H.C., 1988. Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of *Triticum aestivum* L. and *Avena sativa* L. with reference to *Zea mays* L. *New Phytol.* 110, 363-370.

Alexander, T., Toth, R., Meier, R., Weber, H.C., 1989. Dynamics of arbuscule development and degeneration in onion, bean and tomato with reference to vesicular arbuscular mycorrhizae in grasses. *Can. J. Bot.* 67, 2505-2513.

Allen, E.B., Chambers, J.C., Connor, K.F., Allen, M.F., Brown, R.W., 1987. Natural reestablishment of mycorrhizae in disturbed alpine ecosystems. *Arct. Alp. Res.* 19, 11–20.

Allen, E.B., Rincon, E., Allen, M.F., Perez-Jimenez, A., Huante, P., 1998. Disturbance and seasonal dynamics of mycorrhizae in a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* 30, 261–274.

Allen, M.F., 1991. *The ecology of mycorrhizae*. Cambridge University Press, New York. 1-200

Almeida, R.T., Schenck, N.C., 1990. A revision of the genus *Sclerocystis* (Glomaceae, Glomales). *Mycologia* 82, 703–714.

Alves, S.G., Costa, M.L., Barbosa, S.F.S., Fernandes, L.P.C., 2001. Potencial de infectividade de fungos micorrizicos arbusculares oriundos de area de caatinga nativa e degradada por mineração no Estado da Bahia, Brasil. *Rev. Bras. Bot.* 24, 135-143.

Ames, R.N., Schneider, R.W., 1979. *Entrophospora*, a new genus in the Endogonaceae. *Mycotaxon* 8, 347–352.

Anderson, R.C., Liberta, A.E., Dickman, L.A., Katz, A.J., 1983. Spatial variation in vesicular-arbuscular mycorrhiza spore density. *Bull. Torrey Bot. Club.* 110, 519–525.

Augé, R.M., 2000. Stomatal behavior of arbuscular mycorrhizal plants. In: Kapulnik, Y., Douds, D.D., (eds.). *Arbuscular mycorrhizas: physiology and function*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands. 1-384.

AVAEMET. Associació Valencianca de Meteorología Josep Peinado. <http://www.avamet.org/> accessed: 19.12.2017.

- Aytok, O., Yilmaz, K.T., Ortas, I., Cakan, H., 2013. Changes in mycorrhizal spore and root colonization of coastal dune vegetation of the Seyhan Delta in the postcultivation phase. *Turk. J. Agric. For.* 37, 52-61.
- Azcón, R., 1987. Germination and hyphal growth of *Glomus mosseae* in vitro: effects of rhizosphere bacteria and cell-free culture media. *Soil Biol. Biochem.* 19, 417-419.
- Azcón-Aguilar, C., Díaz-Rodríguez, R.M., Barea, J.M., 1986. Effect of free-living fungi on the germination of *G. mosseae* on soil extract. In Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S., (eds.). *Physiological and genetical aspects of mycorrhizae*. INRA, Paris. 515-519.
- Bago, B., Azcón-Aguilar, C., Goulet, A., Piché, Y., 1998a. Branched absorbing structures (BAS): a feature of the extraradical mycelium of symbiotic arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 139, 375-388.
- Bago, B., Azcón-Aguilar, C., Piché, Y., 1998b. Architecture and developmental dynamics of the external mycelium of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* grown under monoxenic conditions. *Mycologia* 90, 52-62.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Ann. Rev. Plant. Biol.* 57, 233-266.
- Balázs, T.K., Błaszczowski, J., Chwat, G., Góralaska, A., Gáspár, B.K., Lukács, A.F., Kovács, G.M., 2015. Spore-based study of arbuscular mycorrhizal fungi of semiarid sandy areas in Hungary, with *Diversispora jakucsiae* sp. nov. *Mycol. Prog.* 14, 1021.
- Banuelos, J., Alarcón, A., Larsen, J., Cruz-Sánchez, S., Trejo, D., 2014. Interactions between arbuscular mycorrhizal fungi and *Meloidogyne incognita* in the ornamental plant *Impatiens balsamina*. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 14, 63-74.
- Bartolome-Estebán, H., Schenck, N.C., 1994. Spore germination and hyphal growth of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to soil aluminium saturation. *Mycologia* 86, 217-226.
- Bécard, G., Kosuta, S., Tamasloukht, M., Sájalon-Delmas, N., Roux, C., 2004. Partner communication in the arbuscular mycorrhizal interaction. *Can. J. Bot.* 82, 1186-1197.
- Bécard, G., Piché, Y., 1989. Fungal growth-stimulation by CO<sub>2</sub> and root exudates in vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 2320-2350.
- Beena, K.R., Raviraja, N.S., Arun, A.B., Sridhar, K.R., 2000a. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi on the coastal sand dunes of the west coast of India. *Curr. Sci.* 79, 1459-1466.
- Beena, K.R., Raviraja, N.S., Sridhar, K.R., 2000b. Seasonal variations of arbuscular mycorrhizal fungal association with *Ipomoea pes-caprae* of coastal sand dunes, Southern India. *J. Environ. Biol.* 21, 341-347.
- Beltrano, J., Ruscitti, M., Arango, M.C., Ronco, M., 2013. Effects of arbuscular mycorrhiza inoculation on plant growth, biological and physiological parameters and mineral nutrition in pepper grown under different salinity and P levels. *J. Soil Sci. Plant Nutr.* 13, 123-141.
- Bencherif, K., Boutekrabet, A., Dalpé, Y., Sahraoui, A.L.H., 2016. Soil and seasons affect arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Tamarix* rhizosphere in arid and semi-arid steppes. *App. Soil Ecol.* 107, 182-190.
- Bennett, A.E., Daniell, T.J., Öpik, M., Davison, J., Moora, M., Zobel, M., Selosse, M.A., Evans, D., 2013. Arbuscular mycorrhizal fungal networks vary throughout the growing season and between successional stages. *PLoS One* 8, e83241.

- Bentivenga, S.P., Hetrick, B.A.D., 1991. Relationship between mycorrhizal activity, burning, and plant productivity in a tallgrass prairie. *Can. J. Bot.* 69, 2597–2602.
- Berch, S.M., Fortin, J.A., 1983. Lectotypification of *Glomus macrocarpum* and proposal of new combinations: *Glomus australe*, *Glomus versiforme*, and *Glomus tenebrosus* (Endogonaceae). *Can. J. Bot.* 61, 2608-2617.
- Berch, S.M., Fortin, J.A., 1984. Some sporocarpic Endogonaceae from eastern Canada. *Can. J. Bot.* 62, 170-180.
- Bergero, R., Perotto, S., Girlanda, M., Vidano, G. Luppi, A., 2000. Ericoid mycorrhizal fungi are common root associates of a Mediterranean ectomycorrhizal plant (*Quercus ilex*). *Mol. Ecol.* 9, 1639–1649.
- Besserer, A., Puech-Pagès, V., Kiefer, P., Gomez-Roldan, V., Jauneau, A., Roy, S., Portais, J.C., Roux, C., Bécard, G., Sejalon-Delmas, N., 2006. Strigolactones stimulate arbuscular mycorrhizal fungi by activating mitochondria. *PLoS Biol.* 4, 1239–1247.
- Bever, J.D., 2002. Host-specificity of AM fungal population growth rates can generate feedback on plant growth. *Plant Soil* 244, 281–290.
- Bever, J.D., Schultz, P.A., Pringle, A., Morton, J.B., 2001. Arbuscular mycorrhizal fungi: more diverse than meets the eye, and the ecological tale of why. *BioScience* 51, 923–931.
- Bianciotto, V., Genre, A., Jargeat, P., Lumini, E., Bécard, G., Bonfante, P., 2004. Vertical transmission of endobacteria in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* through generation of vegetative spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 70, 3600–3608.
- Birnboim, H., Doly, J., 1979. A rapid alkaline extraction procedure for screening recombinant plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.* 7, 1513–1523.
- Blackwell, M., 2011. The fungi: 1, 2, 3.. 5.1 million species? *Am. J. Bot.* 98, 426–438.
- Błaszowski J., 1995. *Glomus corymbiforme*, a new species in Glomales from Poland. *Mycologia* 87, 732-737.
- Błaszowski J., 1993b. Comparative studies of the occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in cultivated and uncultivated soils of Poland. *Acta Mycol.* 28, 93–140.
- Błaszowski J., 1993c. Polish Glomales XII. *Glomus macrocarpum* Tul. et Tul. and *Glomus microcarpum* Tul. et Tul. *Bull. Pol. Ac. Sci. Biol. Sci.* 41, 29–39.
- Błaszowski J., 1994. Arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) of the Hel Peninsula, Poland. *Mycorrhiza* 5, 71–88.
- Błaszowski J., Blanke V., Renker C., Buscot F., 2004. *Glomus aurantium* and *G. xanthium*, new species in Glomeromycota. *Mycotaxon* 90, 447-467.
- Błaszowski, J., 1991. Polish Glomales 8. *Scutellispora nodosa* - a new species with knobby spores. *Mycologia* 83, 537-542.
- Błaszowski, J., 1993a. The occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) in plant communities of maritime dunes and shores of Poland. *Bull. Pol. Ac. Sci. Biol. Sci.* 41, 377-392.
- Błaszowski, J., 2012. Glomeromycota. IB Publisher Polish Academy of sciences, Poland. 1-288.
- Błaszowski, J., Chwat, G., Górska, A., Bobrowska-Chwat, A., 2015a. *Glomus tetrastratosum*, a new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycoscience* 56, 280-286.

- Błaszowski, J., Chwat, G., Górska, A., Ryszka, P., Orfanoudakis, M., 2014. *Septoglomus jasnowskiae* and *Septoglomus turnauae*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycol. Prog.* 13, 999-1009.
- Błaszowski, J., Czerniawska B., 2011. Arbuscular Mycorrhizal fungi (Glomeromycota) associated with roots of *Ammophila arenaria* growing in maritime dunes of Bornholm (Denmark). *Acta Soc. Bot. Pol.* 80, 63-76.
- Błaszowski, J., Furrázola, E., Chwat G., Górska A., Lukács, A.F., Gábor M., Kovács G.M., 2015b. Three new arbuscular mycorrhizal *Diversispora* species in Glomeromycota. *Mycol. Prog.* 14, 1-12.
- Błaszowski, J., Kovács, G.M., Gáspár, B.K., Orłowska, E., Pagano, M.C., F. Araújo, S., Wubet, T., Buscot, F., 2013. *Septoglomus fuscum* and *S. furcatum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycologia* 105, 670–680.
- Błaszowski, J., Kozłowska, A., Crossay, T., Symanczik, S., Al-Yahya'ei, M.N., 2017. A new family, Pervetustaceae with a new genus, *Pervetustus*, and *P. simplex* sp. nov. (Paraglomerales), and a new genus, *Innospora* with *I. majewskii* comb. nov. (Paraglomeraceae) in the Glomeromycotina. *Nova Hedwigia* 105, 397–410.
- Błaszowski, J., Tadych, M., Madej, T., 2001. *Glomus arenarium*, a new species in Glomales (Zygomycetes). *Acta Soc. Bot. Pol.* 70, 97-101.
- Błaszowski, J., Adamska, J., Czernjawska, B., 2002. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) of the Vistula Bar. *Acta Mycol.* 37, 39-62.
- Bonfante, P., 1984. Anatomy and morphology of VA mycorrhizae. In Powell, C.L., Bagyaraj, D.J., (eds.). *Mycorrhizae*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, USA. 5-33.
- Bonfante, P., 2003. Plants, mycorrhizal fungi and endobacteria: a dialog among cells and genomes. *Biol. Bull.* 204, 215–220.
- Bonfante, P., Genre, A., 2010. Mechanisms underlying beneficial plant – fungus interactions in mycorrhizal symbiosis. *Nat. Commun.* 1, 10.1038
- Brown, A., Bledsoe, C., 1996. Spatial and temporal dynamics of mycorrhizas in *Jaumea carnosa*, a tidal saltmarsh holophyte. *J. Ecol.* 84, 703–715.
- Brown, J.H., Gibson, A.C., 1983. *Biogeography*. Mosby, St. Louis, Mo. USA. 1-643.
- Brundrett, M.C., 2004. Diversity and classification of mycorrhizal associations. *Biol. Rev.* 79, 473–495.
- Brundrett, M.C., 2009. Mycorrhizal associations and other means of nutrition of vascular plants: understanding the global diversity of host plants by resolving conflicting information and developing reliable means of diagnosis. *Plant Soil* 320, 37–77.
- Bruns, T.D., Corradi, N., Redecker, D., Taylor, J.W., Öpik, M., 2017. Glomeromycotina: what is a species and why should we care? *New Phytol. ViewPoint*.
- Bruns, T.D., Taylor, J.W., 2016. Fungal symbionts comment on “Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism”. *Science* 35, 826
- Buee, M., Rossignol, M., Jauneau, A., Ranjeva, R., Bécard, G., 2000. The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates. *Mol. Plant Microbe. Interact.* 13, 693–698.
- Bunn, R.A., Ramsey, P.W., Lekberg, Y., 2015. Do native and invasive plants differ in their interactions with arbuscular mycorrhizal fungi? A meta-analysis. *J. Ecol.* 103, 1547–1556.

- Bunn, R.A., Zabinski, C.A., 2003. Arbuscular mycorrhizae in thermal-influenced soils in Yellowstone National Park. *West North Am. Nat.* 63, 409–415.
- Camprubí, A., Calvet, C., Cabot, P., Pitet, M., Estaun, V., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi associated with psammophilic vegetation in Mediterranean coastal sand dunes. *SJAR.* 8, 96-102.
- Cantrell, I.C., Linderman, R.G., 2001. Preinoculation of lettuce and onion with VA mycorrhizal fungi reduces deleterious effects of soil salinity. *Plant Soil* 233, 269-281.
- Carvalho, L.M., Caçador, I., Martins-Loução M.A., 2001. Temporal and spatial variation of arbuscular mycorrhizas in salt marsh plants of the Tagus estuary (Portugal). *Mycorrhiza* 11, 303-309.
- Cavanilles, A.J., 1795. Observaciones sobre la historia natural, geografía, agricultura, poblaciones y frutos del Reyno de Valencia. Madrid. Imprenta Real. Tome I, 1-236.
- Cázares, E., Trapp, J.M., 1993. Vesicular endophytes in roots of the Pinaceae. *Mycorrhiza* 2, 153–156.
- CEDEX: 22-414-5-002., 2015. Estrategia de actuación en la costa sur de Valencia (Puerto de Valencia-Puerto de Denia). Informe final. Centro de Estudios de Puertos y Costas. 1-145.
- Chagnon, P.L., Bradley, R.L., Klironomos, J.N., 2015. Trait-based partner selection drives mycorrhizal network assembly. *Oikos* 124, 1609-1616.
- Chaudhary, V.B., Lau, M. K., Johnson, N.C., 2008. Macroecology of Microbes – Biogeography of the Glomeromycota. Springer-Verlag Berlin Heidelberg 529-563.
- Chaudhary, V.B., O’Dell, T.E., Rillig, M.C., Johnson, N.C., 2014. Multiscale patterns of arbuscular mycorrhizal fungal abundance and diversity in semiarid Shrublands. *Fungal Ecol.* 12, 32-43.
- Clapp, J.P., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 1999. Ribosomal small subunit sequence variation within spores of an arbuscular mycorrhizal fungus, *Scutellospora* sp. *Mol. Ecol.* 8, 915–922.
- Clapp, J.P., Rodríguez, A., Dodd, J.C., 2001. Inter-and intra-isolate Rrna large subunit variation in spores of *Glomus coronatum*. *New Phytol.* 149, 539-554.
- Clapp, J.P., Young, J.P.W., Merryweather, J.W., Fitter, A.H., 1995. Diversity of fungal symbionts in arbuscular mycorrhizas from a natural community. *New Phytol.* 130, 259–265.
- Colla, G., Roupshael, Y., Cardarelli, M., Tullio, M., Rivera, C.M., Rea, E., 2008. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biol. Fertil. Soils.* 44, 501-509.
- Córdoba, A.S., de Mendonca, M.M., Stürmer, S.L., Rygielwicz, P.T., 2001. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi along a sand dune stabilization gradient: a case study at Praia da Joaquina, Ilha de Santa Catarina, South Brazil. *Mycoscience* 42, 379-387.
- Corradi, N., Brachmann, A., 2016. Fungal mating in the most widespread plant symbionts? *Trends. Plant Sci.* 22, 10.1016.
- Corradi, N., Hijri, M., Fumagalli, L., Sanders, I.R., 2004. Arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) harbour ancient fungal tubulin genes that resemble those of the chytrids (Chytridiomycota). *Fungal Genet. Biol.* 41, 1037–1045.
- Costa, M., 1987. La vegetación. En: *El Medio Ambiente en la Comunidad Valenciana*, Generalitat Valenciana 56-63.
- Costa, M., Mansanet, J., 1981. Los ecosistemas dunares levantinos: La Dehesa de la Albufera de Valencia. *Anales Jard. Bot. Madrid* 37, 277-299.

- Costa, M., Peris, J., Stübing, G., 1986. Ecosistemas vegetales del litoral mediterráneo español. Ministerio de Obras Públicas y Urbanismo, Gobierno de España 1-271.
- Croll, D., Wille, L., Gamper, H.A., Mathimaran, N., Lammers, P.J., Corradi, N., Sanders, I.R., 2008. Genetic diversity and host plant preferences revealed by simple sequence repeat and mitochondrial markers in a population of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*. *New Phytol.* 178, 672–687.
- Crossay, T., Cilia, A., Covalac, Y., Redecker, D., 2018. Four new species of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) associated with endemic plants from ultramafic soils of New Caledonia. *Mycol. Prog.* 17, 729-744.
- Cruz, C., Correia, P., Ramos, A.C., Carvalho, L., Bago, A., Martins-Loução, M.A., 2008. Arbuscular mycorrhiza in physiological and morphological adaptations of Mediterranean plants. In: Varma, A., Hock, B., (eds.). *Mycorrhiza: biology, genetics, novel endophytes and biotechnology*. Springer, Germany 729–749.
- da Silva, I.R., de Souza, F.A., da Silva, D.K.A., Oehl, F., Costa-Maia, L., 2017a. Patterns of arbuscular mycorrhizal fungal distribution on mainland and island sandy coastal plain ecosystems in Brazil. *Microb. Ecol.* 74, 654-669.
- da Silva, M.A., Barbosa, F.B., Mayumi, A., de Melo, N.F., Costa, L., 2017b. Application of arbuscular mycorrhizal fungi during the acclimatization of *Alpinia purpurata* to induce tolerance to *Meloidogyne arenaria*. *Plant Pathol. J.* 33, 329-336.
- Dalpé, Y., 1989. Inventaire et repartition de la flore endomycorhizienne de dunes et de rivages maritimes du Québec, du Nouveau-Brunswick et de la Nouvelle-Ecosse. *Rev. Ecol. Syst.* 116, 219-236.
- Dalpé, Y., Souza, F.A., Declerck, S., 2005. The life cycle of *Glomus* species in monoxenic culture. In: Declerck, S., Strullu, D.G., Fortin, J.A., (eds.). *In Vitro culture of mycorrhizas*. Springer, Heidelberg 49–71.
- Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 2001. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonizing arable crops. *FEMS Microbiol. Ecol.* 36, 203–209.
- Daniels, B.A., Trappe, J.M., 1980. Factors affecting spore germination of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus epigaeus*. *Mycologia* 72, 457-471.
- Davison, J., Moora, M., Öpik, M., Adholeya, A., Ainsaar, L., Bâ, A., Burla, S., Diedhiou, A.G., Hiiesalu, I., Jairus, T., Johnson, N.C., Kane, A., Koorem, Kochar, K.M., Ndiaye, C., Pärtel, M., Reier, Ü., Saks, Ü., Singh, R., Vasar, M., Zobel, M., 2015. Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism. *Science* 349, 971-973.
- De Assís, D.M.A., Oehl, F., Gonçalves, C.M., da Silva, D.K.A., da Silva, G.A., 2016. Community structure of arbuscular mycorrhizal fungi in fluvial and maritime dunes of Brazilian Northeast. *App. Soil Ecol.* 108, 136-146.
- Declerck, S., Strullu, D.G., Plenchette, D., 1996. In vitro mass-production of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus versiforme*, associated with Ri T-DNA transformed carrot roots. *Mycology Res.* 100, 1237-1242.
- Desiro, A., Duckett, J.G., Pressel, S., Villarreal, J.C., Bidartondo, M.I., 2013. Fungal symbioses in hornworts: a chequered history. *Proc. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 280, 20130207.
- Dhillon, S.S., Anderson, R.C., 1993. Seasonal dynamics of dominant species of arbuscular mycorrhizae in burned and unburned sand prairies. *Can. J. Bot.* 71, 1625–1630.
- Díaz del Olmo, F., 1994. Geomorfología de España. Ed. Rueda 1-636.



- Díaz, G., Roland, A., Albaladejo, J., 1992. Influencia del tipo de suelo sobre las pautas de colonización y eficiencia en la simbiosis micorrícica de seis especies de *Glomus*. *Crypt. Mycol.* 13, 47-56.
- Downes, G.M., Alexander, I.J., & Cairney, J., W.G., 1992. A study of ageing of spruce (*Picea sitchensis* (Bong.) Carr.) ectomycorrhizas. I. Morphological and cellular changes in mycorrhizas formed by *Tylospora fibrillosa* (Burt. Donk) and *Paxillus involutus* (Batsch. ex Fr.) Fr. *New Phytol.* 122, 141–152.
- Dutt, S., Sharma, S.D., Kumar, P., 2013. Arbuscular mycorrhizas and Zn fertilization modify growth and physiological behavior of apricot (*Prunus armeniaca* L.), *Sci. Hortic.* 155, 97–104.
- Eason, W.R., Newman, E.I. & Chuba, P.N., 1991. Specificity of interplant cycling of phosphorus: the role of mycorrhizas. *Plant Soil* 137, 267–274.
- Egerton-Warburton, L.M., Johnson, N.C., Allen, E.B., 2007. Mycorrhizal community dynamics following nitrogen fertilization: a cross-site test in five grasslands. *Ecol. Monogr.* 77, 527–544.
- Eom, A.H., Hartnett, D.C., Wilson, G.W.T., 2000. Host plant species effects on arbuscular mycorrhizal fungal communities in tallgrass prairie. *Oecologia* 122, 435–444.
- Eom, A.H., Hartnett, D.C., Wilson, G.W.T., Figge, D.A., 1999. Effects of fire, mowing and fertilizer amendments on arbuscular mycorrhizas in tallgrass prairie. *Am. Midl. Nat.* 142, 55–69.
- Eom, A.H., Wilson, G.W.T., Hartnett, D.C., 2001. Effects of ungulate grazers on arbuscular mycorrhizal symbiosis and fungal community structure in tallgrass prairie. *Mycologia* 93, 233–242.
- Estrada, B., Aroca, R., Barea, J.M., Ruiz-Lozano, J.M., 2013a. Native arbuscular mycorrhizal fungi isolated from a saline habitat improved maize antioxidant systems and plant tolerance to salinity. *Plant Sci.* 201, 42-51.
- Estrada, B., Beltran-Hermoso, M., Palenzuela, J., Iwase, K., Ruiz-Lozano, J.M., Barea, J. M., Oehl, F., 2013b. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the rhizosphere of *Asteriscus maritimus* (L) Less., a representative plant in arid and saline Mediterranean ecosystems. *J. Arid. Environ.* 97, 170–175.
- Estrada, B., Palenzuela, J., Barea, J.M., Ruiz-Lozano, J.M., da Silva, G.A., Oehl, F., 2011. *Diversispora clara* (Glomeromycetes)— a new species from saline dunes in the Natural Park Cabo de Gata (Spain). *Mycotaxon* 118, 73–81.
- Evelin, H., Kapoor, R., Giri, B., 2009. Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress: a review. *Ann. Bot.* 104, 1263–1280.
- Falush, D., Wirth, T., Linz, B., Pritchard, J.K., Stephens, M., Kidd, M., Blaser, M.J., Graham, D.Y., Vacher, S., Perez-Perez, G.I., Yamaoka, Y., Megraud, F., Otto, K., Reichard, U., Katzowitsch, E., Wang, X., Achtman, M., Suerbaum, S., 2003. Traces of human migrations in *Helicobacter pylori* populations. *Science* 299, 1582–1585.
- Fernández-Mazuecos, M., Blanco-Pastor, J.L., Vargas, P., 2013. A phylogeny of toadflaxes (*Linaria* mill.) based on nuclear internal transcribed spacer sequences: systematic and evolutionary consequences. *Int. J. Plant Sci.* 174, 234–249.
- Ferrol, N., Tamayo, E., Vargas, P., 2016. The heavy metal paradox in arbuscular mycorrhizas: from mechanisms to biotechnological applications. *J. Exp. Bot.* 67, 6253–6265.
- Fontaneto, D.E., Herniou, E.A., Boschetti, C., Caprioli, M., Melone, G., Ricci, C., Barraclough, T.G., 2007. Independently evolving species in asexual bdelloid rotifers. *PLoS Biol.* 5, e87.
- Forteza, J., Rubio, J.L., Gimeno, E., (Coords.) 1995. Catálogo de suelos de la Comunidad Valenciana. Valencia: Generalitat Valenciana. Conselleria d'Agricultura, Pesca i Alimentació, Generalitat Valenciana, España.

- Frank, B., 1885. Über die auf Wurzelymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze. *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 3, 128–145.
- Friese, C.F., Koske, R.E., 1991. The spatial dispersion of spores of vesicular arbuscular mycorrhizal fungi in a sand dune: microscale patterns associated with the root architecture of American beachgrass. *Mycol. Res.* 95, 952–957.
- Funatsu, Y., Nakatsubo, T., Yamaguchi, O., Horikoshi, T., 2005. Effects of arbuscular mycorrhizae on the establishment of the alien plant *Oenothera laciniata* (Onagraceae) on a Japanese Coastal sand dune. *JCR.* 21, 1054-1061.
- Gai, J.P., Christie, P., Feng, G., Li X.L., 2006. Twenty years of research on biodiversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in China: a review. *Mycorrhiza* 16, 229-239.
- Gamper, H., Leuchtman, A., 2007. Taxon-specific PCR primers to detect two inconspicuous arbuscular mycorrhizal fungi from temperate agricultural grassland. *Mycorrhiza* 17, 145–152.
- Gamper, H.A., Walker, C., Schüßler, A., 2009. *Diversispora celata* sp. nov: molecular ecology and phylotaxonomy of an inconspicuous arbuscular mycorrhizal fungus. *New Phytol.* 182, 495–506.
- Gandolfi, A., Sander, I.R., Rossi, V., Menozzi, P., 2003. Evidence of recombination in putative ancient asexuals. *Mol. Biol. Evol.* 20, 754-761.
- Gange, A.C., Brown, V.K., 2002. Actions and interactions of soil invertebrates and arbuscular mycorrhizal fungi in affecting the structure of plant communities. In: van der Heijden M.G.A., Sanders I.R., (eds.). *Mycorrhizal ecology*. Springer, Heidelberg 321–344
- García de León, D., Moora, M., Öpik, M., Neuenkamp, L., Gerz, M., Jairus, T., Vasar, M., Bueno, G.C., Davison, J., Zobel, M., 2016. Symbiont dynamics during ecosystem succession: co-occurring plant and arbuscular mycorrhizal fungal communities. *FEMS Microbiol. Ecol.* 92, fiw097.
- Gavito, M.E., Olsson, P.A., Rohier, H., Medina-Peñañiel, A., Jakobsen, I., Bago, A., Azcón-Aguilar, C., 2005. Temperature constraints on the growth and functioning of root organ cultures with arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 168, 179–188.
- Gehring, C.A., Whitham, T.G., 2002. Mycorrhizae-herbivore interactions: population and community consequences. In: van der Heijden M.G.A., Sanders I.R., (eds.). *Mycorrhizal ecology*. Springer, Heidelberg 297–320.
- Genre, A., Chabaud, M., Timmers, T., Bonfante, P., Barker, D.G., 2005. Arbuscular mycorrhizal fungi elicit a novel intracellular apparatus in *Medicago truncatula* root epidermal cells before infection. *Plant Cell.* 17, 3489-3499.
- Gerdemann, J.W., Nicolson, T.H., 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extractive from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 46, 235-244.
- Gerdemann, J.W., Trappe, J.M., 1974. Endogonaceae in the Pacific Northwest. *Mycologia Mem.* 5, 1–76.
- Gianinazzi-Pearson, V., Diem, H.G., 1982. Endomycorrhizae in the Tropics. In: Dommergues, Y.R., Diem, H.G., (eds.). *Microbiology of tropical soils - implications in soil management*. Nijhoff, The Hague 209–251.
- Gianinazzi-Pearson, V., Morandi, D., Dexheimer, J., Gianinazzi, S., 1981. Ultrastructural and ultracytochemical features of a *Glomus tenuis* mycorrhiza. *New Phytol.* 88, 633-639.

- Gianinazzi-Pearson, V., Smith, S.E., Gianinazzi, S., Smith, F.A., 1991. Enzymatic studies on the metabolism of vesicular-arbuscular mycorrhizas. Is H<sup>+</sup>-ATPase a component of ATP-hydrolysing enzyme activities in plant-fungus interfaces? *New Phytol.* 117, 61-74.
- Gibson, J.L., Kimbrough, J.W., Benny, G.L., 1986. Ultrastructural observations on Endogonaceae (Zygomycetes). II. Glaziellales ord. nov. and Glaziellaceae fam. nov.: new taxa based upon light and electron microscopic observations of *Glaziella aurantiaca*. *Mycologia* 78, 941-954.
- Giovannetti M., Avio L., Salutini L., 1991. Morphological, cytochemical, and ontogenetic characteristics of a new species of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus. *Canad. J. Bot.* 69, 161-167.
- Giovannetti, M., Fortuna, P., Cisternesi, A.S., Morini, S., Nuti, M.P., 2001. The occurrence of anastomosis formation and nuclear exchange in intact arbuscular mycorrhizal networks. *New Phytol.* 151, 717-724.
- Giovannetti, M., Gianinazzi-Pearson, V., 1994. Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycol. Res.* 98, 705–715.
- Giovannetti, M., Sbrana, C., 1998. Meeting a non-host: the behaviour of AM fungi. *Mycorrhiza* 8, 123–130.
- Giri, B., Kapoor, R., Mukerji, K.G., 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum*, may be partly related to elevated K<sup>+</sup>/Na<sup>+</sup> ratios in root and shoot tissues. *Microb. Ecol.* 54, 753-760.
- González, M., 2015. Estudio de los mecanismos implicados en la homeostasis de metales pesados en el hongo formador de micorrizas arbusculares *Glomus intraradices*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. CSIC. 1-193.
- Google Earth™: <https://www.google.com/intl/es/earth/> accessed: 19.12.2017.
- Goto, B.T., da Silva, G.A., Maia, L.C., Gomes, R., Coyne, D., Tchabi, A., Lawouin, L., Hountondji, F., Oehl, F., 2011. *Racocetra tropicana*, a new species in the Glomeromycetes from tropical areas. *Nova Hedwigia* 92, 69–82.
- Goto, T.M., Maia, L., 2006. Glomerospores: a new denomination for the spores of Glomeromycota, a group molecularly distinct from the Zygomycota. *Mycotaxon* 96, 129-132.
- Gracia, F.J., Hernández, L., Hernández, A.I., Sanjaume, E., Flor, G., 2009a. Dunas móviles embrionarias. *Tragsa* 1-54.
- Gracia, F.J., Hernández, L., Hernández, A.I., Sanjaume, E., Flor, G., 2009b. Dunas móviles de litoral con *Ammophila arenaria* (dunas blancas). *Tragsa* 1-48.
- Guillén, A., Mesquita-Joanes, F., Juan Bautista Peris, J.B., Arrillaga, I., 2018. Effects of environmental and temporal factors on Glomeromycotina spores in sand dunes along the Gulf of Valencia (Spain). En prensa.
- Halary, S., Malik, S.B., Lildhar, L., Slamovits, C.H., Hijri, M., Corradi, N., 2011. Conserved meiotic machinery in *Glomus* spp., a putatively ancient asexual fungal lineage. *Genome Biol. Evol.* 3, 950–958.
- Hall, I.R., Fish, B.J., 1979. A key to the Endogonaceae. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 73, 261–270.
- Harley, J.L., Harley, E.L., 1987. A check-list of mycorrhiza in the British flora. *New Phytol.* 105, 1–102.
- Harrington, T.J., Mitchell, D.T., 2002. Colonization of root systems of *Carex flacca* and *C. pilulifera* by *Cortinarius (Dermocybe) cinnamomeus*. *Mycol. Res.* 106, 452–459.

- Hart, M.M., Reader, R.J., Klironomos, J.N., 2001. Life-history strategies of arbuscular mycorrhizal fungi in relation to their successional dynamics. *Mycologia* 93, 1186–1194.
- Hartnett, D.C., Wilson, G.W.T., 1999. Mycorrhizae influence plant community structure and diversity in tallgrass prairie. *Ecology* 80, 1187–1195.
- Hazard, C., Gosling, P., van der Gast, C.J., Mitchell, D.T., Doohan, F.M., Bending, G.D., 2013. The role of local environment and geographical distance in determining community composition of arbuscular mycorrhizal fungi at landscape scale. *ISME J.* 6, 498–508.
- Heinemeyer, A., Fitter, A.H., 2004. Impact of temperature on the arbuscular mycorrhizal (AM) symbiosis: growth responses of the host plant and its AM fungal partner. *J. Exp. Bot.* 55, 525–534.
- Helgason T., Daniell, T.J., Husband, R., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 1998. Ploughing up the wood-wide web? *Nature* 394, 431.
- Helgason, T., Fitter, A.H., Young, J.P.W., 1999. Molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi colonising *Hyacinthoides nonscripta* (Bluebell) in a seminatural woodland. *Mol. Ecol.* 8, 659–666.
- Hempel, S., Renker, C., Buscot, F., 2007. Differences in the species composition of arbuscular mycorrhizal fungi in spore, root and soil communities in a grassland ecosystem. *Environ. Microbiol.* 9, 1930–1938.
- Herrera-Peraza, R.A., Cuenca, G., Walker, C., 2001. *Scutellospora crenulata*, a new species of Glomales from La Gran Sabana, Venezuela. *Can. J. Bot.* 79, 674–678.
- Hijri, M., Sanders, I.R., 2004. The arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* is haploid and has a small genome size in the lower limit of eukaryotes. *Fung. Genet. Biol.* 41, 253–261.
- Hildebrandt, U., Janetta, K., Bothe, H., 2002. Towards growth of arbuscular mycorrhizal fungi independent of a plant host. *App. Environ. Microbiol.* 68, 1919–1924.
- Hobbie, J.E., Hobbie, E.A., 2006. <sup>15</sup>N in symbiotic fungi and plants estimates nitrogen and carbon flux rates in Arctic tundra. *Ecology* 87, 816–822.
- Hodge, A., Storer, K., 2015. Arbuscular mycorrhiza and nitrogen: implications for individual plants through to ecosystems. *Plant Soil* 386, 1–19.
- Horn, S., Hempel, S., Verbruggen, E., Rillig, M.C., Caruso, T., 2017. Linking the community structure of arbuscular mycorrhizal fungi and plants: a story of interdependence? *ISME J.* 11, 1400–1411.
- Hosny, M., de Barros, J.P.P., Gianinazzi-Pearson, V., Dulieu, H., 1997. Base composition of DNA from glomalean fungi: high amount of methylated cytosine. *Fung. Genet. Biol.* 22, 103–111.
- ICV (Institut Cartogràfic Valencià) 2017: <http://www.icv.gva.es/ca/> accessed: 19.12.2017.
- levinsh, G., 2006. Biological basis of biological diversity: physiological adaptations of plants to heterogeneous habitats along a sea coast. *Acta Univ. Latv.* 710, 53–79.
- INVAM: <https://invam.wvu.edu> accessed: 19.09.2016.
- Iwaniuk A., Błaszowski J., 2004a. Arbuscular fungi and mycorrhizae of agricultural soils of the Western Pomerania. Part I. Occurrence of arbuscular fungi and mycorrhizae. *Acta Mycol.* 39, 59–84.
- Iwaniuk A., Błaszowski J., 2004b. Arbuscular fungi and mycorrhizae of agricultural soils of the Western Pomerania. Part II. Distribution of arbuscular fungi. *Acta Mycol.* 39, 3–18.

- Jager J.C., Looman C.W.N., 1995. Data collection. In *Data Analysis in Community and Landscape Ecology*, Jongman R.H.G., ter Braak C.J.F., van Tongeren O.F.R., (eds). Cambridge University Press: Cambridge 10–28.
- Jakobsen, I., Abbott, L.K., Robson, A.D., 1992. External hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Trifolium subterraneum* L. Spread of hyphae and phosphorous inflow into roots. *New Phytol.* 120, 371–380.
- Janos, D.P., Sahley, C.T., Emmons, L.H., 1995. Rodent dispersal of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in Amazonian Peru. *Ecology* 76, 1852–1858.
- Jansa, J., Mozafar, A., Anken, T., Ruh, R., Sanders, I.R., Frossard, E., 2002. Diversity and structure of AMF communities as affected by tillage in a temperate soil. *Mycorrhiza* 12, 225–234.
- Jasper, D.A., L. K. Abbott, L.K., Robson, A.D., 1989. Hyphae of a vesicular—arbuscular mycorrhizal fungus maintain infectivity in dry soil, except when the soil is disturbed. *New Phytol.* 112, 101-107.
- Jobim, K., Goto, B.T., 2016. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota) in maritime sand dunes of Brazilian northeast. *Studies in Fungi* 1, 43–55.
- Johnson, N.C., 1993. Can fertilization of soil select less mutualistic mycorrhizae? *Ecol. Appl.* 3, 749–757.
- Johnson, N.C., Pflieger, F.L., 1992. Vesicular-arbuscular mycorrhizae and cultural stresses. In: Bethlenfalvay, G.J., Linderman, R.G., (eds.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. American Society of Agronomy, Madison 71–99.
- Johnson, N.C., Rowland, D.L., Corkidi, L., Egerton-Warburton, L.M., Allen, E.B., 2003. Nitrogen enrichment alters mycorrhizal allocation at five mesic to semiarid grasslands. *Ecology* 84, 1895–1908.
- Johnson, N.C., Tilman, D., Wedin, D., 1992. Plant and soils control on mycorrhizal fungal communities. *Ecology* 73, 2034-2042.
- Juge, C., Samson, J., Bastien, C., Vierheilig, H., Coughlan, A., Piché, Y., 2002. Breaking dormancy in spores of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices*: a critical cold-storage period. *Mycorrhiza* 12, 37–42.
- Kaonongbua, W., Morton, J.B., Bever, J.D., 2010. Taxonomic revision transferring species in *Kuklospora* to *Acaulospora* (Glomeromycota) and a description of *Acaulospora colliculosa* sp. nov. from field collected spores. *Mycologia* 102, 1497–1509.
- Karandashov, V., Kuzovkina, I., Hawkins, H.J., George, E., 2000. Growth and sporulation of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus caledonium* in dual culture with transformed carrot roots. *Mycorrhiza* 10, 23-28.
- Kawahara, A., Ezawa, T., 2013. Characterization of arbuscular mycorrhizal fungal communities with respect to zonal vegetation in a coastal dune ecosystem. *Oecologia* 173, 533-543.
- Kennedy, L.J., Stutz, J.C., Morton, J.B., 1999. *Glomus eburneum* and *G. luteum*, two new species of arbuscular mycorrhizal fungi, with emendation of *G. spurcum*. *Mycologia* 91, 1083-1093.
- Kiriacheck, S.G., Azevedo, L.B.C., Peres, L.E.P., Lambais, M.R., 2009. Regulação do desenvolvimento de micorrizas arbusculares. *Rev. Bras. Ciênc. Solo* 33, 1–16.
- Kivlin, S.N., Hawkes, C.V., Treseder, K.K., 2011. Global diversity and distribution of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.* 43, 2294–2303.

- Kjøller, R., Rosendahl, S., 2000. Detection of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales) in roots by nested PCR and SSCP (single stranded conformation polymorphism). *Plant Soil* 226, 189–196.
- Klironomos, J., Moutoglis, P., Kendrick, B., Widden, P., 1993. A comparison of spatial heterogeneity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in two maple-forest soils. *Can. J. Bot.* 71, 1472-1480.
- Klironomos, J.N., 2000. Host-specificity and functional diversity among arbuscular mycorrhizal fungi. In: Bell, C.R., Brylinsky, M., Johnson-Green, P., (eds.). *Proceedings of the Eighth International Symposium on Microbial Ecology. Microbial Biosystems: New Frontiers*. Halifax, Canada: Atlantic Canada Society for Microbial Ecology 845–851.
- Koch, A.M., Croll, D., Sanders, I.R., 2006. Genetic variability in a population of arbuscular mycorrhizal fungi causes variation in plant growth. *Ecol. Lett.* 9, 103– 110.
- Konvalinková, T., Püschel, D., Janoušková, M., Gryndler, M., Jansa, J., 2015. Duration and intensity of shade differentially affects mycorrhizal growth and phosphorus uptake responses of *Medicago truncatula*. *Front. Plant Sci.* 6, 1-11.
- Koske, R.E., Walker, C., 1986b. *Glomus globiferum*: a new species of Endogonaceae with a hyphal peridium. *Mycotaxon* 26, 133–142.
- Koske, R.E., 1985. *Glomus aggregatum* emended: a distinct taxon in the *Glomus fasciculatum* complex. *Mycologia* 77, 619-630.
- Koske, R.E., 1975. *Endogone* spores in Australian sand dunes. *Can. J. Bot.* 53, 668-672.
- Koske, R.E., 1987. Distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi along a latitudinal temperature gradient. *Mycologia* 79, 55–68.
- Koske, R.E., Gemma, J.N., Corkidi, L., Siguenza, C., Rincon, E., 2004. Arbuscular mycorrhizas in coastal dunes. In: Martínez, M.L., Psuty, N.P., (eds.), *Coastal dunes, ecology and conservation*. Springer, Heidelberg 173-187.
- Koske, R.E., Walker, C., 1985. Species of *Gigaspora* (Endogonaceae) with roughened outer walls. *Mycologia* 77, 702–720.
- Kosuta, S., Chabaud, M., Loughon, G., Gough, C., Dénarié, J., Barker, D.G., Bécard, G., 2003. Diffusible factor from arbuscular mycorrhizal fungi induces symbiosis-specific MtENOD11 expression in roots of *Medicago truncatula*. *Plant Physiol.* 131, 952-962.
- Koske, R.E., Walker, C., 1986a. Species of *Scutellospora* (Endogonaceae) with smooth-walled spores from maritime sand dunes: two new species and a redescription of the spores of *Scutellospora pellucida* and *Scutellospora calospora*. *Mycotaxon* 27, 219-235.
- Krebs, C.J., 1999. *Ecological Methodology*, 2nd ed. Addison-Wesley Educational Publishers, Inc. 1-620.
- Krüger, M., Krüger, C., Walker, C., Stockinger, H., Schüssler, A., 2012. Phylogenetic reference data for systematics and phylotaxonomy of arbuscular mycorrhizal fungi from Phylum to species level. *New Phytol.* 193, 970-984.
- Krüger, M., Stockinger, H., Krüger, C., Schüssler, A., 2009. DNA-based species level detection of Glomeromycota: one PCR primer set for all arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 183, 212–223.
- Kuga, Y., Saito, K., Nayuki, K., Peterson, R.L., Saito, M., 2008. Ultrastructure of rapidly frozen and freeze-substituted germ tubes of an arbuscular mycorrhizal fungus and location of polyphosphate. *New Phytol.* 178, 189–200.

- Kumar, S., Stecher, G., Tamura, K., 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33, 1870-1874.
- Lambais, M.R., 2006. Unraveling the signaling and signal transduction mechanisms controlling arbuscular mycorrhiza development. *Sci. Agric.* 63, 405–413.
- Lanfranco, L., Novero, M., Bonfante, P., 2005. The mycorrhizal fungus *Gigaspora margarita* possesses a CuZn superoxide dismutase that is up-regulated during symbiosis with legume hosts. *Plant Physiol.* 137, 1319–1330.
- Larsson, A., 2014. AliView: a fast and lightweight alignment viewer and editor for large datasets. *Bioinformatics* 30, 3276-3278.
- Leake, J.R., Johnson, D., Donnelly, D.P., Muckle, G.E., Boddy, L., Read, D.J., 2004. Networks of power and influence: the role of mycorrhizal mycelium in controlling plant communities and agroecosystem functioning. *Can. J. Bot.* 82, 1016–1045.
- Lee, J., Lee, S., Young, J.P.W., 2008. Improved PCR primers for the detection and identification of arbuscular mycorrhizal fungi. *FEMS Microbiol. Ecol.* 65, 339–349.
- Lekberg, Y., Koide, R.T., Rohr, J.R., Aldrich-Wolfe, L., Morton, J.B., 2007. Role of niche restrictions and dispersal in the composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities. *J. Ecol.* 95, 95–105.
- Lenski, R.E., Travisano, M., 1994. Dynamics of adaptation diversification: a 10000-generation experiment with bacterial populations. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 91, 6808–6814.
- Ley, C., Gallego, J.B., Vidal, C., 2007. Manual de restauración de dunas costeras. Ministerio de Medio Ambiente, Gobierno de España 1-250.
- Ligrone, R., Carafa, A., Lumini, E., Bianciotto, V., Bonfante, P., Duckett, J.G., 2007. Glomeromycotean associations in liverworts: a molecular cellular and taxonomic analysis. *Am. J. Bot.* 94, 1756–1777.
- Lobon, I., Tucci, S., de Manuel, M., Ghirotto, S., Benazzo, A., Prado-Martinez, J., Lorente-Galdos, B., Nam, K., Dabad, M., Hernandez-Rodriguez, J., Comas, D., Navarro, A., Schierup, M.H., Andres, A.M., Barbujani, G., Hvilsom, C., Marques-Bonet, T., 2016. Demographic history of the genus *Pan* inferred from whole mitochondrial genome reconstructions. *Genome Biol. Evol.* 8, 2020–2030.
- López, M.L., Piñas, S., López, M.S., 2008. Macrobioclimas, bioclimas y variantes bioclimáticas de la España peninsular y balear, y su cartografía. Publicaciones de Biología, Universidad de Navarra, Serie Botánica 17, 229-236.
- Lovelock, C.E., Andersen, K., Morton, J.B., 2003. Arbuscular mycorrhizal communities in tropical forests are affected by host tree species and environment. *Oecologia* 135, 268–279.
- Mäder, P., Vierheilig, H., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Frey, B., Christie, P., Wiemken, A., 2000. Transport of <sup>15</sup>N from a soil compartment separated by a polytetrafluoroethylene membrane to plant roots via the hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 146, 155–161.
- Maillet, F., Poinot, V., André, O., Puech-Pagès, V., Haouy, A., Gueunier, M., Cromer, L., Giraudet, D., Formey, D., Niebel, A., Martinez, E.A., Driguez, H., Bécard, G., Dénarié, J., 2011. Fungal lipochitoooligosaccharide symbiotic signals in arbuscular mycorrhiza. *Nature* 6, 58-63.
- Marleau, J., Dalpé, Y., St-Arnaud, M., Hijri, M., 2011. Spore development and nuclear inheritance in arbuscular mycorrhizal fungi. *BMC Evol. Biol.* 51, 1-11.
- Martiny, J.B.H., Bohannan, B., Brown, J., Colwell, R., Fuhrman, J., Green, J., Horner-Devine, M.C., Kane, M., Krumins, J., Kuske, C., Morin, P., Naeem, S., Ovreas, L., Reysenbach, A.L., Smith, V., Staley, L., 2006. Microbial biogeography: putting microorganisms on the map. *Nature Rev. Microbiol.* 4, 102–112.

- Mateo, G., Crespo, M.B., 2014. Claves Ilustradas para la Flora Valenciana. Monografías de Flora Montibérica 1-503.
- Matsubara, Y., Uetake, Y., Peterson, R.L., 1999. Entry and colonization of *Asparagus officinallis* roots by arbuscular mycorrhizal fungi with emphasis on changes in host microtubules. *Can. J. Bot.* 77, 1159–1167.
- Maun, M.A., 2009. The Biology of coastal sand dunes. Oxford University press, Oxford, 1-280.
- McGee, P.A., 1986. Further sporocarpic species of *Glomus* (Endogonaceae) from South Australia. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 87, 123–129.
- McGee, P.A., 1988. Growth response to and morphology of mycorrhizas of *Thysanotus* (Anthericaceae: Monocotyledonae). *New Phytol.* 109, 459–463.
- McIlveen, W.D., Cole, H., 1976. Spore dispersal of Endogonaceae by worms, ants, wasps and birds. *Can. J. Bot.* 54, 1486–1489.
- McKendrick, S.L., Leake, J.R., Read, D.J., 2000. Symbiotic germination and development of myco-heterotrophic plants in nature: transfer of carbon from ectomycorrhizal *Salix repens* and *Betula pendula* to the orchid *Corallorhiza trifida* through shared hyphal connections. *New Phytol.* 145, 539–548.
- Medina, J., Cornejo, P., Borie, F., Meier, S., Palenzuela, J., Vieria, H.E.E., Ferreira, A.C.A., Alves da Silva, G., Sánchez-Castro, I., Oehl, F., 2014. *Corymbioglomus pacificum*, a new glomeromycete from a saline lakeshore in Chile. *Mycotaxon* 127, 173-183.
- Meiser, A., Miklós, B., Schmitt, I., 2014. Meta-analysis of deep-sequenced fungal communities indicates limited taxon sharing between studies and the presence of biogeographic patterns. *New Phytol.* 201, 623–635.
- Middleton, E.I., Richardson, S., Koziol, L., Palmer, C.E., Yermakov, Z., Henning, J.A., Achultz, P.A., Bever, J.D., 2015. Locally adapted arbuscular mycorrhizal fungi improve vigor and resistance to herbivory of native prairie plant species. *Ecosphere* 6, 276.
- Miller, R.M., 1987. Mycorrhizae and succession.. In: Jordan, W.R., Gilpin, M.E., Aber, J.D., (eds.). *Restoration ecology: a synthetic approach to ecological research*. Cambridge University Press, Cambridge 205–220
- Miller, S.P., Bever, J.D., 1999. Distribution of arbuscular mycorrhizal fungi in stands of the wetland grass *Panicum hemitomon* along a wide hydrologic gradient. *Oecologia* 119, 586–592.
- Molina, R., Trappe, J.M., 1982. Lack of mycorrhizal specificity by the ericaceous hosts *Arbutus menziesii* and *Arctostaphylos uva-ursi*. *New Phytol.* 90, 495–509.
- Morton, J.B., 1986. Effects of mountants and fixatives on morphology and Melzer's reaction of spores of two *Acaulospora* species (Endogonaceae). *Mycologia* 78, 787–794.
- Morton, J.B., 1993. Problems and solutions for the integration of glomalean taxonomy, systematic biology, and the study of endomycorrhizal phenomena. *Mycorrhiza* 2, 97-109.
- Morton, J.B., 1995. Taxonomic and phylogenetic divergence among five *Scutellospora* species (Glomales, Zygomycetes) based on comparative developmental sequences. *Mycologia* 87, 127–137.
- Morton, J.B., Benny, G.L., 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes): a new order, Glomales, two new suborders, Glomineae and Gigasporineae, and two new families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon* 37, 471–491.



- Morton, J.B., Bentivenga, S.P., 1994. Levels of diversity in endomycorrhizal fungi (Glomales, Zygomycetes) and their role in defining taxonomic and non-taxonomic groups. *Plant Soil* 159, 47–59.
- Morton, J.B., Koske, R.E., 1988. *Scutellospora dipurpurescens*, a new species in the Endogonaceae from West Virginia. *Mycologia* 80, 520–524.
- Morton, J.B., Msiska, Z., 2010. Phylogenies from genetic and morphological characters do not support a revision of Gigasporaceae (Glomeromycota) into four families and five genera. *Mycorrhiza* 20, 483–496.
- Morton, J.B., Redecker, D., 2001. Two new families of Glomales, Archaeosporaceae and Paraglomaceae, with two new genera *Archaeospora* and *Paraglomus*, based on concordant molecular and morphological characters. *Mycologia* 93, 181–195.
- Mosse, B., 1956. Fructifications of an *Endogone* species causing endotrophic mycorrhiza on fruit plants. *Ann. Bot.* 20, 349–362.
- Mosse, B., 1959. The regular germination of resting spores and some observations on the growth requirements of an *Endogone* sp. causing vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 42, 274–286.
- Mummey, D.L., Rillig, M.C., 2006. The invasive plant species *Centaurea maculosa* alters arbuscular mycorrhizal fungal communities in the field. *Plant Soil* 288, 81–90.
- Mummey, D.L., Rillig, M.C., 2008. Spatial characterization of arbuscular mycorrhizal fungal molecular diversity at the submetre scale in a temperate grassland: arbuscular mycorrhizal fungal molecular diversity. *FEMS Microbiol. Ecol.* 64, 260–270.
- Munkvold, L., Kjølner, R., Vestberg, M., Rosendahl, S., Jakobsen, I., 2004. High functional diversity within species of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 164, 357–364.
- Muthukumar, T., Udaiyan, K., Karthikeyan, A., Manian, S., 1997. Influence of native endomycorrhiza, soil flooding and nurse plant on mycorrhizal status and growth of purple nutsedge (*Cyperus rotundus* L.). *Agric. Ecosyst. Environ.* 61, 51–58.
- Neffar, S., Beddiar, A., Chenchouni, H., 2015. Effects of soil chemical properties and seasonality on mycorrhizal status of prickly pear (*Opuntia ficus-indica*) planted in hot arid steppe rangelands. *Sains Malays.* 44, 671–680.
- Newsham, K.K., Fitter, A.H., Watkinson, A.R., 1995. Multi-functionality and biodiversity in arbuscular mycorrhizas. *Trends Ecol. Evol.* 10, 407–411.
- Nicolson, T.H., Schenck, N.C., 1979. Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia* 71, 179–198.
- Nylund, J.E., Kasimir, A., Arveby, A.S., 1982. Cortical wall penetration and papilla formation in senescent cortical cells during ectomycorrhiza synthesis in vitro. *Physiol. Plant Pathol.* 21, 71–73.
- Ocampo, J.A., 1986. Vesicular-arbuscular mycorrhizal infection of “host” and “non-host” plants: effect on the growth responses of the plants and competition between them. *Soil Biol. Biochem.* 18, 607–610.
- Oehl, F., de Souza, F.A., Sieverding, E., 2008. Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza-forming Glomeromycetes. *Mycotaxon* 106, 311–360.
- Oehl, F., Jansa, J., Souza, F.A., Silva, G.A., 2010. *Cetraspora helvetica*, a new ornamented species in the Glomeromycetes from Swiss agricultural fields. *Mycotaxon* 114, 71–84.

- Oehl, F., Sieverding, E., 2004. *Pacispora*, a new vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus genus in the Glomeromycetes. *J. Appl. Bot. Food. Qual.* 78, 72–82.
- Oehl, F., Sieverding, E., Palenzuela, J., Ineichen, K., da Silva, G., 2011. Advances in Glomeromycota taxonomy and classification. *IMA-Fungus* 2, 191-199.
- Oehl, F., Souza, F., Sieverding, E., 2008. Revision of *Scutellospora* and description of five new genera and three new families in the arbuscular mycorrhiza forming Glomeromycetes. *Mycotaxon* 106, 311–360.
- Oehl, F., Sýkorová, Z., Redecker, D., Wiemken, A., Sieverding, E., 2006. *Acaulospora alpina*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species characteristics for high mountainous and alpine regions of the Swiss Alps. *Mycologia* 98, 286–294.
- Öpik, M., Davison, J., Moora, M., Pärtel, M., Zobel, M., 2016. Response to Comment on “Global assessment of arbuscular mycorrhizal fungus diversity reveals very low endemism”. *Science* 351, 826.
- Öpik, M., Metsis, M., Daniell, T.J., Zobel, M., Moora, M., 2009. Large-scale parallel 454 sequencing reveals host ecological group specificity of arbuscular mycorrhizal fungi in boreonemoral forest. *New Phytol.* 204, 171-179.
- Öpik, M., Zobel, M., Cantero, J.J., Davison, J., Facelli, J.M., Hiiesalu, I., Jairus, T., Kalwij, J.M., Koorem K., Leal, M.E., Liira, J., Metsis, M., Neshataeva, V., Paal, J., Phosri, C., Põlme, S., Reier, Ü., Saks, Ü., Schimann, H., Thiéry, O., Vasar, M., Moora, M., 2013. Global sampling of plant roots expands the described molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 23, 411–430.
- Orchard, O., Hilton, S., Bending, G.D., Dickie, I.A., Standish, R.J., Gleeson, D.B., Jeffery, R.P., Powell, J.R., Walker, C., Bass, D., Monk, J., Simonin, A., Ryan, M.H., 2016. Fine endophytes (*Glomus tenue*) are related to Mucoromycotina, not Glomeromycota. *New Phytol.* 213, 481–486.
- Ortega, C., 2018. Diversidad de hongos micorrícicos arbusculares (Glomeromycota) asociados a la rizosfera de dos plantas psamofilas en dunas semifijas del Parque Natural de la Albufera de Valencia. Trabajo Final de Grado, Universitat de València 1-44.
- Pagano, M.C., Zandavalli, R.B., Araújo, F.S., 2013. Biodiversity of arbuscular mycorrhizas in three vegetational types from the semiarid of Ceará State, Brazil. *Appl. Soil Ecol.* 67, 37-46.
- Palenzuela, J., Azcón-Aguilar, C., Barea, J.M., da Silva, G.A., Oehl, F., 2013. *Septoglomus altomontanum*, a new arbuscular mycorrhizal fungus from mountainous and alpine areas in Andalucía (southern Spain). *IMA Fungus* 4, 243–249.
- Pawlowska, T.E., Douds, D.D., Charvat, I., 1999. *In vitro* propagation and life cycle of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus etunicatum*. *Mycol. Res.* 103, 1549-1556.
- Pawlowska, T.E., Taylor, J.W., 2004. Organization of genetic variation in individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *Nature* 427, 733-737.
- Pearson, J.N., Abbott, L.K., Jasper, D.A., 1993. Mediation of competition between two colonizing VA mycorrhizal fungi by the host plant. *New Phytol.* 123, 93-98.
- Pearson, V., Read D.J., 1975. The physiology of the mycorrhizal endophyte *Calluna vulgaris*. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 64, 1-7.
- Pellegrino, E., Bedini, S., Avio, L., Bonari, E., Giovannetti, M., 2011. Field inoculation effectiveness of native and exotic arbuscular mycorrhizal fungi in a Mediterranean agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.* 43, 367-376.

- Pellissier, L., Niculita-Hirzel, H., Dubuis, A., Pagni, M., Guex, N., Ndiribe, C., Salamin, N., Xenarios, I., Goudet, J., Sanders, I.R., Guisan, A., 2014. Soil fungal communities of grasslands are environmentally structured at a regional scale in the Alps. *Mol. Ecol.* 23, 4274-4290.
- Pfeiffer, C.M., Walker, C., Bloss, H.E., 1996. *Glomus spurcum*: a new endomycorrhizal fungus from Arizona. *Mycotaxon*.59, 373-382.
- Phillips, J.M., Hayman, D.S., 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 55, 158-161.
- Piercey, M.M., Thormann, M.N., Currah, R.S., 2002. Saprobic characteristics of three fungal taxa from ericalean roots and their associations with the roots of *Rhododendron groenlandicum* and *Picea mariana* in culture. *Mycorrhiza* 12, 175–180.
- Pirozynski, K.A., Dalpé, Y., 1989. Geological history of the Glomaceae with particular reference to mycorrhizal symbiosis. *Symbiosis* 7, 1-36.
- Ponder, F., 1980. Rabbits and grasshoppers: vectors of endomycorrhizal fungi on new coal mine spoil. North Central Forest Experiment Station, USDA Forest Service Research Note No. NE- 250. Washington, DC
- Pringle, A., Bever, J.D., 2002. Divergent phenologies may facilitate the coexistence of arbuscular mycorrhizal fungi in a North Carolina grassland. *Am. J. Bot.* 89, 1439–1446.
- R Core Team. 2017. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Rabatin, S.C., Rhodes, L.H., 1982. *Acaulospora bireticulata* inside oribatid mites. *Mycologia* 74, 859–861.
- Rainey, P.B., Travisano, M., 1998. Adaptive radiation in a heterogeneous environment. *Nature* 394, 69–72
- Ramos, A.C., Façanha, A.R., Feijó, J.A., 2008a. Ion dynamics during the polarized growth of arbuscular mycorrhizal fungi: from presymbiosis to symbiosis. In: Varma, A., Hock, B., (eds.). *Mycorrhiza: biology, genetics, novel endophytes and biotechnology*. Springer, Germany 241–261.
- Ramos, A.C., Façanha, A.R., Feijó, J.A., 2008b. Proton (H<sup>+</sup>) flux signature for the presymbiotic development of the arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 178, 177–188.
- Ramos, A.C., Façanha, A.R., Lima, P.T., Feijó, J.A., 2008c. pH signature for the responses of arbuscular mycorrhizal fungi to external stimuli. *Plant Signal Behav.* 3, 1–3.
- Ramos, A.C., Lima, P.T., Dias, P.N., Kasuya, M.C.M., Feijó, J.A., 2009a. A pH signaling mechanism involved in the spatial distribution of calcium and anion fluxes in ectomycorrhizal roots. *New Phytol.* 181, 448–462.
- Ramos, A.C., Martins, M.A., Okorokova-Façanha, A.L., Olivares, F.L., Okorokov, L.A., Sepúlveda, N., Feijó, J.A., Façanha, A.R., 2009b. Arbuscular mycorrhizal fungi induce differential activation of the plasma membrane and vacuolar H<sup>+</sup> pumps in maize roots. *Mycorrhiza* 19, 69–80.
- Ramos-Zapata, J.A., Zapata-Trujillo, R., Ortiz-Diaz, J.J., Guadarrama, P., 2011. Arbuscular mycorrhizas in a tropical coastal dune system in Yucatán, Mexico. *Fungal Ecol.* 4, 256-261.
- Ranwell, D.S., 1958. Movement of vegetated sand dunes at Newborough Warren. *J. Ecol.* 46, 83-100.

- Rasmussen, H.N., 1995. Terrestrial orchids from seed to mycotrophic plant. University Press, Cambridge 1-433.
- Rasmussen, P.I., Hugerth, L.W., Blanchet, F.G., Andersson, A.F., Lindahl, B.D., Tack, A.J.M., 2018. Multiscale patterns and drivers of arbuscular mycorrhizal fungal communities in the roots and root-associated soil of a wild perennial herb. *New Phytol.* doi: 10.1111/nph.15088.
- Raudaskoski, M., Kothe, E., 2010. Basidiomycete mating type genes and pheromone signaling. *Eukaryotic Cell* 6, 847-859.
- Rausch, C., Daram, P., Brunner, S., Jansa, J., Laloi, M., Leggewie, G., Amrhein, N., Bucher, M., 2011. A phosphate transporter expressed in arbuscule-containing cells in potato. *Nature* 414, 462-466.
- Read D.J., Perez-Moreno J., 2003. Mycorrhizas and nutrient cycling in ecosystems – a journey towards relevance? *New Phytol.* 157, 475–492.
- Read, D.J., 1996 The structure and function of the ericoid mycorrhizal root. *Ann. Bot.* 77, 365–374.
- Read, D.J., Duckett, J.G., Francis, R., Ligrone, R., Russell, A., 2000. Symbiotic fungal associations in 'lower' land plants. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 355, 815–830.
- Redecker, D., 2000. Specific PCR primers to identify arbuscular mycorrhizal fungi within colonized roots. *Mycorrhiza* 10, 73–80.
- Redecker, D., Kodner, R., Graham, L.E., 2000. Glomalean fungi from the Ordovician. *Science* 289, 1920–1921.
- Redecker, D., Schüssler, A., Stockinger, H. Stürmer, S.L., Morton, J.B., Walker, C., 2013. An evidence-based consensus for the classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomeromycota). *Mycorrhiza* 23, 515-531.
- Rinaldi A.C., Comandini O., Kuyper T.W., 2008. Ectomycorrhizal fungal diversity: separating the wheat from the chaff. *Fungal Divers* 33, 1–45.
- Rivas-Martínez, S., Penas, A., Díaz-González, T.E., Herrero, L., del Río, S., 2004. Mapas de vegetación de las series, geoserias y geopermaseries de España. 1:250000. *Global Geobotany* 3, 1-34.
- Rodríguez-Echeverría, S., Freitas, H., 2006. Diversity of AMF associated with *Ammophila arenaria* ssp. *arundinacea* in Portuguese sand dunes. *Mycorrhiza* 16, 543-552.
- Rodríguez-Echeverría, S., Gera Holb, W.H., Freitas, H., Eason, W. R., Cook, R., 2008. Arbuscular mycorrhizal fungi of *Ammophila arenaria* (L.) Link: spore abundance and root colonisation in six locations of the European coast. *Eur. J. Soil. Biol.* 44, 30-36.
- Rodríguez-Echeverría, S., Teixeira, H., Correia, M., Timóteo, S., Heleno, R., Öpik, M., Moora, M., 2017. Arbuscular mycorrhizal fungi communities from tropical Africa reveal strong ecological structure. *New Phytol.* 213, 380–390.
- Roselló-Verger, V.M., 1969. El litoral valencià, Valencia. *L'Estel* 1-133.
- Rosendahl, S., 2008. Communities, populations and individuals of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 178, 253–266.
- Rothwell, F.M., Holt, C., 1978. Vesicular-arbuscular mycorrhizae established with *Glomus fasciculatus* spores isolated from feces of cricetine mice. Northeast Forest Experiment Station, USDA Forest Service Research Note No. NE-259. Washington, DC
- Rubio, J.L., Andreu, V., Sanchis, E., 1998. Los suelos de la Devesa de la Albufera. *Rev. Valencia. Estud. Auton.* 29, 129-144.

- Russell, P.J., Rodland, K.D., Rachlin, E.M., McCloskey, J.A., 1987. Differential DNA methylation during the vegetative life cycle of *Neurospora crassa*. *J. Bacteriol.* 169, 2902-2905.
- Saks, U., Davison, J., Öpik, M., Vasar, M., Moora, M., Zobel, M., 2014. Root-colonizing and soil-borne communities of arbuscular mycorrhizal fungi in a temperate forest understorey. *Botany* 92, 277–285.
- Sanders, I.R., 2002. Ecology and evolution of multigenomic arbuscular mycorrhizal fungi. *Am. Nat.* 160, S128–S141
- Santos-González, J.C., Finlay, R.D., Tehler, A., 2007. Seasonal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungal communities in roots in a seminatural grassland. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 5613-5623.
- Schenck, N. C., Graham, S. O., Green, N.E., 1975. Temperature and light effect on contamination and spore germination of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *Mycorrhiza* 67, 1189-1192.
- Schenck, N.C., Smith, G.S., 1982. Additional new and unreported species of mycorrhizal fungi (Endogonaceae) from Florida. *Mycologia* 74, 77-92.
- Schultz, P.A., Miller, R.M., Jastrow, J.D., Rivetta, C.V., Bever, J.D., 2001. Evidence of a mycorrhizal mechanism for the adaptation of *Andropogon gerardii* (Poaceae) to high- and low-nutrient prairies. *Am. J. Bot.* 88, 1650–1656.
- Schüßler, A., 2002. Molecular phylogeny, taxonomy, and evolution of *Geosiphon pyriformis* and arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant Soil* 244, 75-83.
- Schüßler, A., Schwarzott, D., Walker, C., 2001. A new fungal phylum, the Glomeromycota: phylogeny and evolution. *Mycol. Res.* 105, 1413–1421.
- Schüßler, A., Walker, C., 2010. The Glomeromycota: a species list with new families. In: Schüßler, A., Walker, C., Gloucester. Published in December 2010 in libraries at The Royal Botanic Garden Edinburgh, The Royal Botanic Garden Kew, Botanische Staatssammlung Munich, and Oregon State University.
- Segarra, J., Bosco, J., 2014. El parc natural de l'Albufera. Un paisaje cultural cargado de historia. *I.A.P.H.* 85, 54-77.
- Selosse, M.A., Le Tacon, F., 1998. The land flora: a phototroph–fungus partnership? *Trends Ecol. Evol.* 13, 15–20.
- Sieverding, E., 1990. Ecology of VAM fungi in tropical agrosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 29, 369–390.
- Sigüenza, C., Espejel, I., Allen, E.B., 1996. Seasonality of mycorrhizae in coastal sand dunes of Baja California. *Mycorrhiza* 6, 151-157.
- Simard S.W., Jones M.D., Durall D.M., 2002. Carbon and nutrient fluxes within and between mycorrhizal plants. In: van der Heijden M.G.A., Sanders, I.R., (eds.). *Mycorrhizal ecology*. Berlin, Heidelberg, Germany: Springer 33–74.
- Simon, L., Lalonde, M., Bruns, T.D., 1992. Specific amplification of 18S fungal ribosomal genes from vesicular–arbuscular endomycorrhizal fungi colonizing roots. *Appl. Environ. Microbiol.* 58, 291–295.
- Siqueira, J.O., 1983. Nutritional and edaphic factors affecting spore germination, germ tube growth and root colonization of the arbuscular mycorrhizal fungi. Doctorate thesis. University of Florida, Gainesville 1-122.

- Siqueira, J.O., Bruce, B., Hubbell, D.H., 1985a. Inibição da germinação de esporos de fungos micorrízicos vesicular-arbuscular por substâncias voláteis produzidas por actinomicetos isolados do solo. In: III Reunião Brasileira sobre Micorrizas, ESAL/FAEPE, Lavras
- Siqueira, J.O., Sylvia, D., Gibson, J., Hubbel, D., 1985b. Spores, germination, and germ tubes of vesicular- arbuscular mycorrhizal fungi. *Can. J. Microbiol.* 31, 965–997.
- Smith S.E., Read D.J., 2008. *Mycorrhizal symbiosis*, 3rd edn. London, UK: Academic Press 1-800.
- Smith, J.E., Johnson, K.A., Cázares, E., 1998. Vesicular mycorrhizal colonisation of seedlings of Pinaceae and Betulaceae after spore inoculation with *Glomus intraradices*. *Mycorrhiza* 7, 279–285.
- Smith, S.E., 1966. Physiology and ecology of orchid mycorrhizal fungi with reference to seedling nutrition. *New Phytol.* 65, 488-499.
- Smith, S.E., Read, D.J., 1997. *Mycorrhizal simbiosis*. 2nd edn. London, UK: Academic Press. 1-605.
- Smith, S.E., Smith, F.A., 2011. Roles of arbuscular mycorrhizas in plant nutrition and growth: new paradigms from cellular to ecosystem scales. *Annu. Rev. Plant. Biol.* 62, 227–250.
- Soteras, F., Moreira, B.C., Grilli, G., Pastor, N., Mendes, F.C., Mendes, D.R., Renison, D., Kasuya, M.C.M., de Souza, F.A., Becerra, A., 2016. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in rhizosphere spores versus roots of an endangered endemic tree from Argentina: is fungal diversity similar among forest disturbance types? *Appl. Soil Ecol.* 98, 272-277.
- Souza, F.A., Berbara R.L.L., 1999. Ontogeny of *Glomus clarum* in Ri t-DNA transformed roots. *Mycologia* 91, 343-350.
- Souza, F.A., Declerck, S., 2003. Mycelium development and architecture, and spore production of *Scutellospora reticulata* in monoxenic culture with Ri T-DNA transformed carrot roots. *Mycologia* 95, 1004-1012.
- Souza, T., 2015. *Handbook of Arbuscular Mycorrhizal Fungi*. Springer 1-153.
- Spain, J.L., Sieverding, E., Oehl, F., 2006. *Appendicispora*: a new genus in the arbuscular mycorrhizaforming Glomeromycetes, with a discussion of the genus *Archaeospora* . *Mycotaxon* 97, 163–182.
- Spain, J.L., Sieverding, E., Schenck, N.C., 1989. *Gigaspora ramisporophora*: a new species with novel sporophores from Brazil. *Mycotaxon* 34, 667–677.
- Spatafora, J.W., Chang, Y., Benny, G.L., Lazarus, K., Smith, M.E., Berbee, M.L., Bonito, G., Corradi, N., Grigoriev, I., Gryganskyi, A., James, T.Y., O'Donnell, K., Roberson, R.W., Taylor, T.N., Uehling, J., Vilgalys, R., White, M.M., Stajich, J.E., 2016. A phylum-level phylogenetic classification of zygomycete fungi based on genome-scale data. *Mycologia* 108, 1028-1046.
- St-John B.J., Smith S.E., Nicholas D.J.D., Smith F.A., 1985. Enzymes of ammonium assimilation in the mycorrhizal fungus *Pezizella ericae* Read. *New Phytol.* 100, 579–584.
- Stockinger, H., Krüger, M., Schüßler, A., 2010. DNA barcoding of arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 187, 461-474.
- Stockinger, H., Walker, C., Schüßler, A., 2009. '*Glomus intraradices* DAOM197198', a model fungus in arbuscular mycorrhiza research, is not *Glomus intraradices*. *New Phytol.* 183, 1176-1187.
- Strullu-Derrien, C., Kenrick, P., Pressel, S., Duckett, J.G., Rioult, J., Strullu, D., 2014. Fungal associations in *Horneophyton ligneri* from the Rhynie Chert (c. 407 million year old) closely resemble those in extant lower land plants: novel insights into ancestral plant–fungus symbioses. *New Phytol.* 203, 964–979.

- Stürmer, S.L., Bellei, M.M., 1994. Composition and seasonal variation of spore populations of arbuscular mycorrhizal fungi in dune soils on the Island of Santa Catarina, Brazil. *Can. J. Bot.* 72, 359-363.
- Stürmer, S.L., Morton, J.B., 1999. Taxonomic reinterpretation of morphological characters in Acaulosporaceae based on developmental patterns. *Mycologia* 91, 849–857.
- Stürmer, S.L., Oliveira, L.Z., Morton, J.B., 2018. Gigasporaceae versus Glomeraceae (phylum Glomeromycota): a biogeographic tale of dominance in maritime sand dunes. *Fungal Ecol.* 32, 49-56.
- Su, Y.Y., Sun, X., Guo, L.D., 2011. Seasonality and host preference of arbuscular mycorrhizal fungi of five plant species in the inner Mongolia steppe, China. *Braz. J. Microbiol.* 42, 57-65.
- Sudová, R., Sýkorová, Z., Rydlová, J., Čtvrtlíková, M., and Oehl, F., 2015. *Rhizogloinus melanum*, a new arbuscular mycorrhizal fungal species associated with submerged plants in freshwater lake Avsjøen in Norway. *Mycol. Prog.* 14, 9.
- Sylvia, D.M., 1986. Spatial and temporal distribution of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Uniola paniculata* in Florida foredunes. *Mycologia* 78, 728–734.
- Symanczik, S., Al-Yahya'ei, M.N., Kozłowska, A., Ryszka, P., Błaszowski, J., 2018. A new genus, *Desertispora*, and a new species, *Diversispora sabulosa*, in the family Diversisporaceae (order Diversisporales, subphylum Glomeromycotina). *Mycol. Prog.* 17, 437-449.
- Tadych, M., Błaszowski, J., 2000. Arbuscular fungi and mycorrhizae (Glomales) of the Slowinski National Park, Poland. *Mycotaxon* 74, 463-483.
- Talbot, J.M., Bruns, T.D., Taylor, J.W., Smith, D.P., Branco, S., Glassman, S.I., Erlandson, S., Vilgalys, R., Liao, H.L., Smith, M.E., Peaya, K.G., 2014. Endemism and functional convergence across the North American soil microbiome. *PNAS.* 111, 6341–6346.
- Tamasloukht, M., Sejalon-Delmas, N., Kluever, A., Jauneau, A., Roux, C., Bécard, G., Franken, P., 2003. Root factors induce mitochondrial-related gene expression and fungal respiration during the developmental switch from asymbiosis to pre-symbiosis in the arbuscular mycorrhizal fungus *Gigaspora rosea*. *Plant Physiol.* 131, 1468–1478.
- Tandy, P.A., 1975. Sporocarpic species of Endogonaceae in Australia. *Aust. J. Bot.* 23, 849–866.
- Tang, N., San Clemente, H., Roy, S., Bécard, G., Zhao, B., Roux, C., 2016. A survey of the gene repertoire of *Gigaspora rosea* unravels conserved features among Glomeromycota for obligate biotrophy. *Front. Microbiol.* 7, 233.
- Taylor, D.L., Hollingsworth, T.N., McFarland, J.W., Lennon, N.J., Nusbaum, C., Ruess, R.W., 2014. A first comprehensive census of fungi in soil reveals both hyperdiversity and fine-scale niche partitioning. *Ecol. Monographs.* 84, 3–20.
- Tchabi, A., Coyned, D., Hountondji, F., Lawouin, L., Wiemken, A., Oehl, F., 2010. Efficacy of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi for promoting white yam (*Dioscorea rotundata*) growth in West Africa. *App. Soil Ecol.* 45, 92–100.
- Tedersoo, L., Biogeography of mycorrhizal symbiosis. Springer 1-557.
- Tedersoo, L., May, T.W., Smith, M.E., 2010. Ectomycorrhizal lifestyle in fungi: global diversity, distribution, and evolution of phylogenetic lineages. *Mycorrhiza* 20, 217–263.
- ter Braak, C., Šmilauer, P., 2012. Canoco Reference Manual and User's Guide: software for ordination (version 5.0). Microcomputer power www.canoco.com. 496.

The plant list: <http://www.theplantlist.org/> accessed: 02.02.2018.

Thirkell, T.J., Charters, M., Elliott, A., Sait, S.M. & Field, K.J., 2017. Are mycorrhizal fungi our sustainable saviours? Considerations for achieving food security. *J. Ecol.* 105, 921-929.

Thoungnon, A.J., Hernandez, K., Eyherabide, M., Sainz, R., Echeverria, H.E., Covacevich, F., 2016. Can soil properties and agricultural land use affect arbuscular mycorrhizal fungal communities indigenous from the Argentinean Pampas soils? *App. Soil Ecol.* 101, 47-56.

Tiwari, P., Adholeya, A., 2002. *In vitro* co-culture of two AMF isolates *Gigaspora margarita* and *Glomus intraradices* on Ri-T-DNA transformed roots. *FEMS Microbiol. Lett.* 206, 39-43.

Tobar, R., Azcón, R., Barea, J.M., 1994. Improved nitrogen uptake and transport from <sup>15</sup>N-labeled nitrate by external hyphae of arbuscular mycorrhiza under waterstressed conditions. *New Phytol.* 126, 119-122.

Tommerup, I.C., Kidby, D.K., 1980. Production of aseptic spores of vesicular-arbuscular endophytes and their viability after chemical and physical stress. *Appl. Environ. Microbiol.* 39, 1111-1119.

Torres-Arias, Y., Ortega, R., Nobre, C., Furrázola, E., Louro, R., 2017. Production of native arbuscular mycorrhizal fungi inoculum under different environmental conditions. *Braz. J. Microbiol.* 48, 87-94.

Trappe, J.W., 1977. Three new Endogonaceae: *Glomus constrictus*, *Sclerocystis clavispora*, and *Acaulospora scrobiculata*. *Mycotaxon* 6, 359-366.

Trépanier, M., Bécard, G., Moutoglis, P., Willemot, C., Gagne, S., Avis, T.J., Rioux, J.A., 2005. Dependence of arbuscular-mycorrhizal fungi on their plant host for palmitic acid synthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 71, 5341-5347.

Tukey, J.W., 1953. Some selected quick and easy methods of statistical analysis. *Trans. N.Y. Acad. Sci. Ser.* 16, 88-97

Turland, N.J., Wiersema, J.H., Barrie, F.R., Greuter, W., Hawksworth, D.L., Herendeen, P.S., Knapp, S., Kusber, W.-H., Li, D.-Z., Marhold, K., May, T.W., McNeill, J., Monro, A.M., Prado, J., Price, M.J., Smith, G.F., (eds.). 2018. International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017. *Regnum Vegetabile* 159. Glashütten: Koeltz Botanical Books.

Turnau, K., Ryszka, P., Gianinazzi-Pearson, V., van Tuinen, D., 2001. Identification of arbuscular mycorrhizal fungi in soils and roots of plants colonizing zinc wastes in southern Poland. *Mycorrhiza* 10, 169-174.

Turrini, A., Sbrana, C., Strani, P., Pezzarossa, B., Risaliti, R., Giovannetti, M., 2010. Arbuscular mycorrhizal fungi of a Mediterranean island (Pianosa), within a UNESCO Biosphere Reserve. *Biol. Fert. Soils.* 46, 511-520.

van der Heijden, M.G.A., Klironomos, J.N., Ursic, M., Moutoglis, P., Streitwolf-Engel, R., Boller, T., Wiemken, A., Sanders, I.R., 1998. Mycorrhizal fungal diversity determines plant biodiversity, ecosystem variability and productivity. *Nature* 396, 69-72.

van der Heijden, M.G.A., Martin, F.M., Selosse, M.A., Sanders, I.R., 2015. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. *New Phytol.* 205, 1406-1423.

Varela-Cervero, S., Vasar, M., Davison, J., Barea, J.M., Öpik, M., Azcón-Aguilar, C., 2015. The composition of arbuscular mycorrhizal fungal communities differs among the roots, spores and extraradical mycelia associated with five Mediterranean plant species. *Environ. Microbiol.* 17, 2882-2895.



- Verdin, A., Sahraoui, A.L.H., Fontaine, J., Grandmoungin-Ferjani, A., Durand, R., 2006. Effects of anthracene on development of an arbuscular mycorrhizal fungus and contribution of the symbiotic association to pollutant dissipation. *Mycorrhiza* 16, 397–405.
- Veresoglou, S.D., Rillig, M.C., 2012. Suppression of fungal and nematode plant pathogens through arbuscular mycorrhizal fungi. *Biol. Lett.* 8, 214–217.
- Vuong, Q.H., 1989. Likelihood ratio tests for model selection and non-nested hypotheses. *Econometrica* 57, 307–333.
- Walker, C., 1983. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: spore wall concepts in species descriptions. *Mycotaxon* 18, 443–455.
- Walker, C., 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: II. A fifth morphological wall type in endogonaceous spores. *Mycotaxon* 25, 95–99.
- Walker, C., 1992. Systematics and taxonomy of the arbuscular endomycorrhizal fungi (Glomales)- a possible way forward. *Agronomie* 12, 887–897.
- Walker, C., Cuenca, G., Sánchez, F., 1998. *Scutellospora spinosissima* sp. nov., a newly described glomalean fungus from acidic, low nutrient plant communities in Venezuela. *Ann. Bot.* 82, 721–725.
- Walker, C., Gianinazzi-Pearson, V., Marion-Espinasse, H., 1993. *Scutellospora castanea*, a newly described arbuscular mycorrhizal species. *Cryptogam., Mycol.* 14, 279–286.
- Walker, C., Gollotte, A., Redecker, D., 2018. A new genus, *Planticonsortium* (Mucoromycotina), and new combination (*P. tenue*), for the fine root endophyte, *Glomus tenue* (basonym *Rhizophagus tenuis*). *Mycorrhiza* 28, 213–219.
- Walker, C., Sanders, F.E., 1986. Taxonomic concepts in the Endogonaceae: III. The separation of *Scutellospora* gen. nov. from *Gigaspora* Gerd. & Trappe. *Mycotaxon* 27, 169–182.
- Walker, C., Trappe, J.M., 1981. *Acaulospora spinosa* sp. nov. with a key to the species of *Acaulospora*. *Mycotaxon* 12, 515–521.
- Walker, C., Vestberg, M., Demircik, F., Stockinger, H., Saito, M., Sawaki, H., Nishmura, I., Schüßler, A., 2007. Molecular phylogeny and new taxa in the Archaeosporales (Glomeromycota): *Ambispora fennica* gen. sp. nov., Ambisporaceae fam. nov., and emendation of *Archaeospora* and Archaeosporaceae. *Mycol. Res.* 111: 137–153.
- Walker, J.F., Aldrich-Wolfe, L.R.A., Barbare H., Simpson N.B., Trowbridge J., Jumpponen A., 2011. Diverse Helotiales associated with the roots of three species of Arctic Ericaceae provide no evidence for host specificity. *New Phytol.* 191, 515–527.
- Warner, N.J., Allen, M.F., MacMahon, J.A., 1987. Dispersal agents of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in a disturbed arid ecosystem. *Mycologia* 79, 721–730.
- Whitcomb, S., Stutz, J.C., 2007. Assessing diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in a local community: role of sampling effort and spatial heterogeneity. *Mycorrhiza* 17, 429–437.
- Willis, A., Sparks, T. H., Rodrigues, B. F., Harris, P.J.C., 2016. Organic amendment increases arbuscular mycorrhizal fungal diversity in primary coastal dunes. *EJE.* 2, 1–8.
- Wu, C.G., Liu, Y.S., Hwuang, Y.L., Wang, Y.P., Chao, C.C., 1995. Glomales of Taiwan: V. *Glomus chimonobambusae* and *Entrophospora kentinensis*, spp. nov. *Mycotaxon* 53, 283–294.
- Wubet, T., Weiß, M., Kottke, I., Oberwinkler, F., 2003. Morphology and molecular diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in wild and cultivated yew (*Taxus baccata*). *Can. J. Bot.* 81, 255–266.

- Wubet, T., Weiß, M., Kottke, I., Teketay, D., Oberwinkler, F., 2006. Phylogenetic analysis of nuclear small subunit rDNA sequences suggests that the endangered African Pencil Cedar, *Juniperus procera*, is associated with distinct members of Glomeraceae. *Mycol. Res.* 110, 1059–1069.
- Xu, T., Veresoglou, S.D., Chen, Y., Rillig, M.C., Xiang, D., Ondrej, D., Hao, Z., Liu, L., Deng, Y., Hu, Y., Chen, W., Wang, J., He, J., Chen, B., 2016. Plant community, geographic distance and abiotic factors play different roles in predicting AMF biogeography at the regional scale in northern China. *Environ. Microbiol. Rep.* 8, 1048-1057.
- Xu, X., Chen, C., Zhang, Z., Sun, Z., Chen, Y., Jiang, J., Shen, Z., 2017. The influence of environmental factors on communities of arbuscular mycorrhizal fungi associated with *Chenopodium ambrosioides* revealed by MiSeq sequencing investigation. *Nature* 7, 45134.
- Yang, H., Zang, Y., Yuan, Y., Tang, J., Chen, X., 2012. Selectivity by host plant affects the distribution of arbuscular mycorrhizal fungi: evidence from ITS rDNA sequence metadata. *BMC Evol. Biol.* 12, 50.
- Zhang, Z., Schwartz, S., Wagner, L., Miller, W., 2000. A greedy algorithm for aligning DNA sequences. *J. Comput. Biol.* 2000. 7, 203-214.
- Zsögön, A.A., Lambais, M.R., Benedito, V.A., Figueira, A.V.O., Perez, L.E., 2008. Reduced arbuscular mycorrhizal colonization in tomato ethylene mutants. *Sci. Agric.* 65, 259–267.
- Zubek, S., Turnau, K., Błaszowski, J., 2008. Arbuscular mycorrhiza of endemic and endangered plants from the Tatra Mts. *Acta Soc. Bot. Poloniae* 77, 149-156.

## Anexo I

### A1. Análisis multielemental del suelo

Todas las dunas móviles de cada localidad mostraron niveles bajos de P y Cu ( $<75$  y  $<0.5$  mg/Kg, respectivamente); de igual modo todas tuvieron una concentración media de Si cercana a 300 g /kg (Fig. A1.1). Los niveles medios de Na variaron entre, aproximadamente, 800 mg/kg en la localidad de “La Garrofera” y cerca de los 1500 mg/kg en la localidad de “Sant Antoni”. El valor más alto, saliéndose de este rango, se detectó en la localidad de “Burguera” con más de 3200 mg/kg (Fig. A1.2). El Mg mostró un patrón similar con concentraciones que iban de 770 mg/kg en la localidad de “Sant Antoni” hasta 1200 mg/kg en la localidad de “El Dosser”. De nuevo el valor más alto, fuera de este rango, se encontró en “Burguera” con cerca de 3600 mg/kg (Fig. A1.2). En el caso del Al se obtuvieron valores en un rango de, aproximadamente, 600 mg/kg en “Burguera” y 2500 en “Sant Antoni”, siendo éstos los valores extremos. Las otras localidades tenían un rango, aproximadamente, entre 1500 y 2000 mg/kg (Fig. A1.2). En cuanto al K, la horquilla de concentraciones medias fue, aproximadamente, desde 2800 en “La Garrofera” hasta 6700 mg/kg en “El Dosser”; el Ca presentó unos valores medios que oscilaron desde, aproximadamente, los 2400 en “Burguera” hasta los 5000 en “El Perelló” (Fig. A1.2); el Mn presentó una concentración media que varió desde, aproximadamente, los 100 mg/kg en “El Dosser”, los 140 mg/kg en “El Perelló” y los 400 mg/kg de “La Garrofera” (Fig. A1.1); finalmente, respecto al Fe y al Zn, de nuevo “La Garrofera” presentó concentraciones medias superiores a las otras localidades: cerca de 7300 y de 24 mg/kg, respectivamente. El rango de concentraciones medias de las otras localidades varió entre los aproximadamente 2000 hasta los 3600 mg/kg para el Fe y entre los 6 y los 14 mg/kg para el Zn (Figs. A1.2-3, respectivamente).

### Dunas móviles

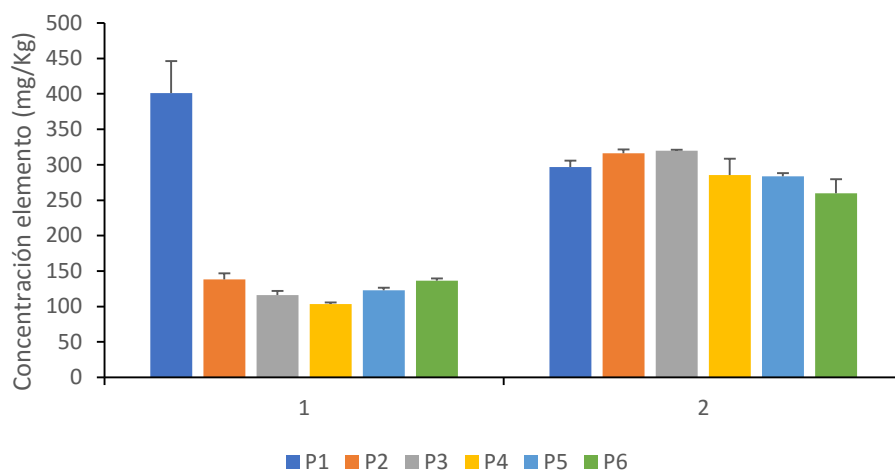


Figura A1.1. Concentración media de Mn (1) y Si (2) en las dunas móviles de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 3 muestras.

### Dunas móviles

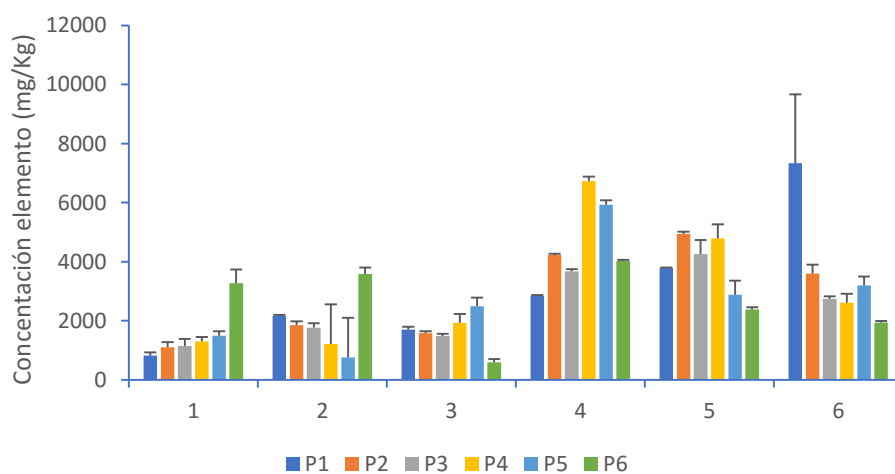


Figura A1.2. Concentración media de Na (1), Mg (2), Al (3), K (4), Ca (5) y Fe (6) en las dunas móviles de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 3 muestras.

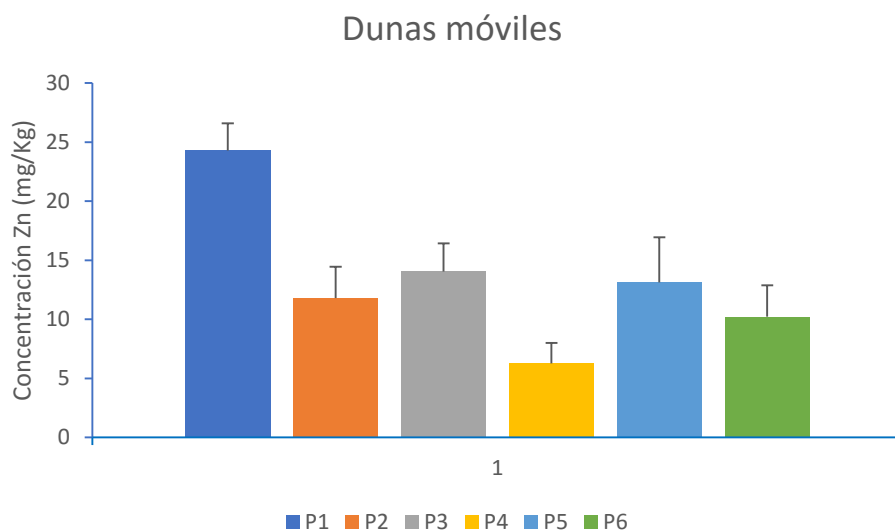


Figura A1.3. Concentración media de Zn en las dunas móviles de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 3 muestras.

## Anexo II

### A2. Clima

Las variables climáticas que caracterizaron cada localidad, estación y año se muestran en las Figs. A2.1-18.

#### A2.1. Temperaturas

En todas las localidades las temperaturas máximas, mínimas y medias diarias (Tmax, Tmin y Tmed) tuvieron un promedio cercano a 25, 15 y 20°C, respectivamente (Fig. A2.1). En cuanto a las temperaturas máximas y mínimas de las temperaturas máximas, mínimas y medias diarias se observó de nuevo un patrón muy similar en todas las localidades (Fig. A2.2). La temperatura máxima de las máximas (MaxTmax) rondó sobre los 40°C; la mínima de las máximas (MinTmax) sobre los 9°C en todas las localidades a excepción de Burguera donde se alcanzaron 10.8°C; la máxima de las mínimas (MaxTmin) sobre los 27°C; la mínima de las mínimas (MinTmin) sobre los 2°C en todas las localidades a excepción de Burguera donde se alcanzaron los 0.8°C; la máxima de las medias (MaxTmed) sobre los 32°C; y, finalmente, la mínima de las medias sobre los 6°C.

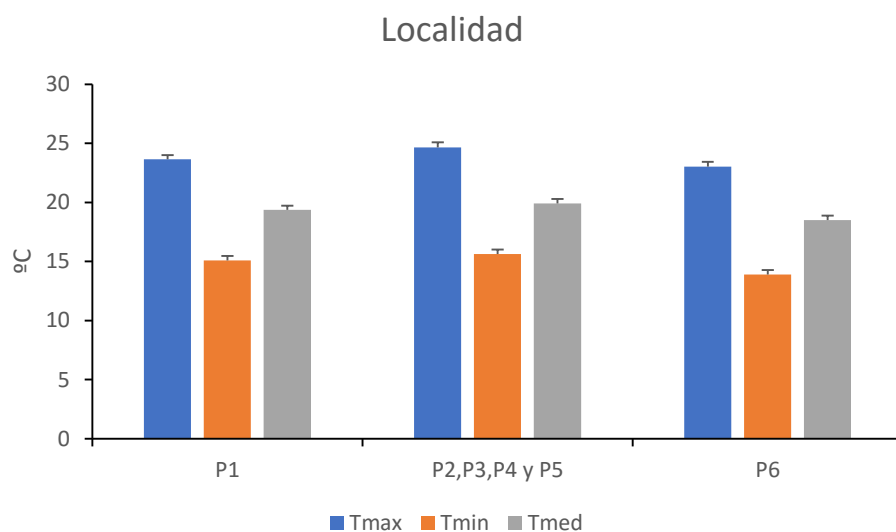


Figura A2.1. Promedio de la temperatura máxima, mínima y media diaria (Tmax, Tmin y Tmed, respectivamente) en cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dossier”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 727 muestras.

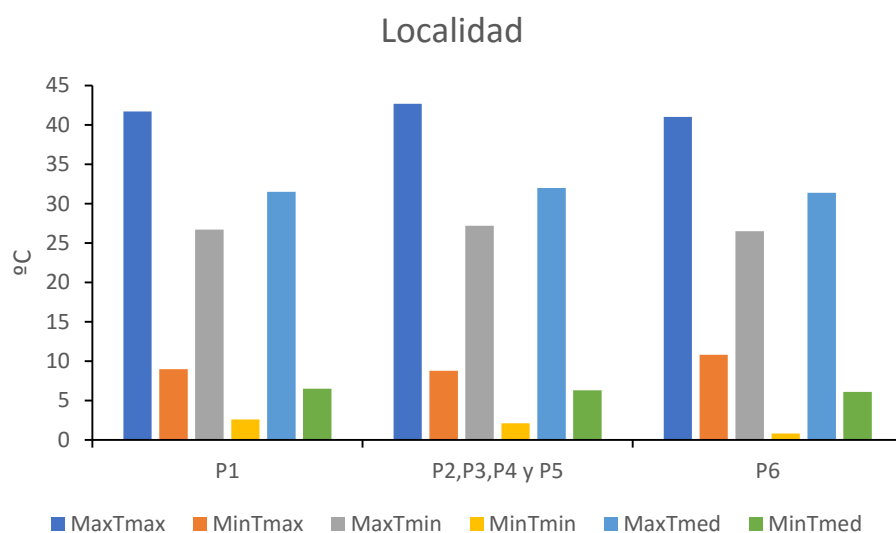


Figura A2.2. Temperatura máxima y mínima de Tmax, Tmin y Tmed: temperatura máxima de las temperaturas máximas diarias (MaxTmax); temperatura mínima de las temperaturas máximas diarias (MinTmax); tempera máxima de las temperaturas mínimas diarias (MaxTmin); temperatura mínima de las temperaturas mínimas diarias (MinTmin); temperatura máxima de las temperaturas medias diarias (MaxTmed); y temperatura mínima de las temperaturas medias diarias para cada localidad (MinTmed). P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dossier”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. n=727.

Respecto a la diferencia entre las temperaturas máximas diarias y mínimas diarias (Tmax-Tmin), máximas diarias y medias diarias (Tmax-Tmed) y mínimas diarias y medias diarias (Tmin-Tmed) (Fig. A2.3) los valores siempre estuvieron en torno a 9°C para Tmax-Tmin y de 4°C de diferencia para Tmax-Tmed y Tmin-Tmed.

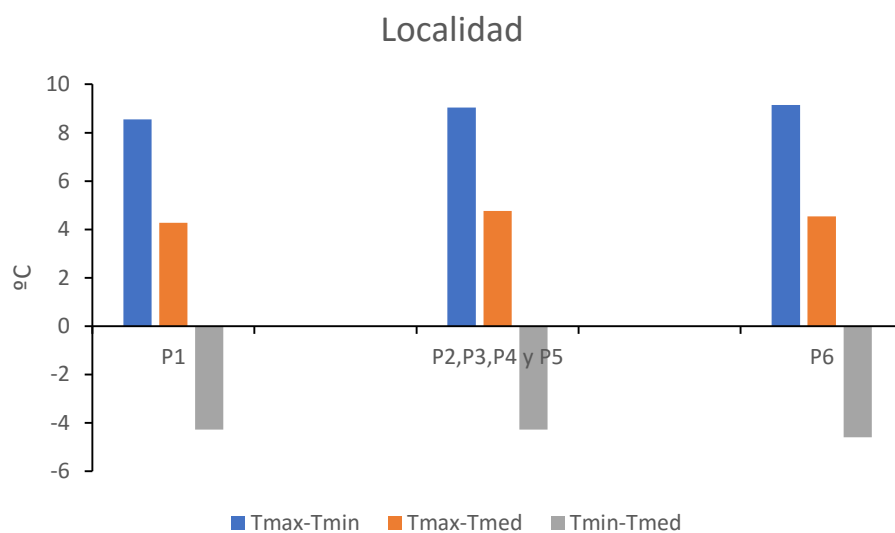


Figura A2.3. Promedio de la temperatura máxima diaria- promedio de la temperatura mínima diaria (Tmax-Tmin); promedio de la temperatura máxima diaria-promedio de la temperatura media diaria (Tmax-Tmed); y promedio de la temperatura mínima diaria-promedio de la temperatura media diaria (Tmin-Tmed) para cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. n=727.

Considerando las temperaturas de cada estación (Fig. A2.4-5), pudo observarse, tal y como se esperaba, que Tmax, Tmin y Tmed fueron superiores en verano (31.1, 22.7 y 26.9°C, respectivamente), mínimas en invierno (16.9, 8.2 y 12.5°C, respectivamente) y bastante similares entre otoño y primavera (Fig. A2.4). La Tmax fue ligeramente superior en primavera (24.2 vs 23.3°C), la Tmin muy similar entre ambas estaciones (14.3°C en primavera vs 14.4°C en otoño) y la Tmed fue ligeramente superior en primavera (19.1 vs 18.9°C) (Fig. A2.5). En cuanto a las temperaturas máximas y mínimas de las temperaturas máximas, mínimas y medias diarias se observó que en verano, a excepción de MaxTmax, se alcanzaron los máximos valores seguidos por primavera, otoño e invierno. MaxTmax osciló entre los 23.8°C en invierno a 42.7°C en primavera; MinTmax entre 8.8°C en invierno a 25.2°C en verano; MaxTmin entre 19.2°C en invierno a 27.2°C en verano; MinTmin entre 0.8°C en invierno a

16.3°C en verano; MaxTmed entre 21.5°C en invierno a 32.0°C en verano; y MinTmed entre 13.0°C a 21.1 en verano (Fig. A2.5).

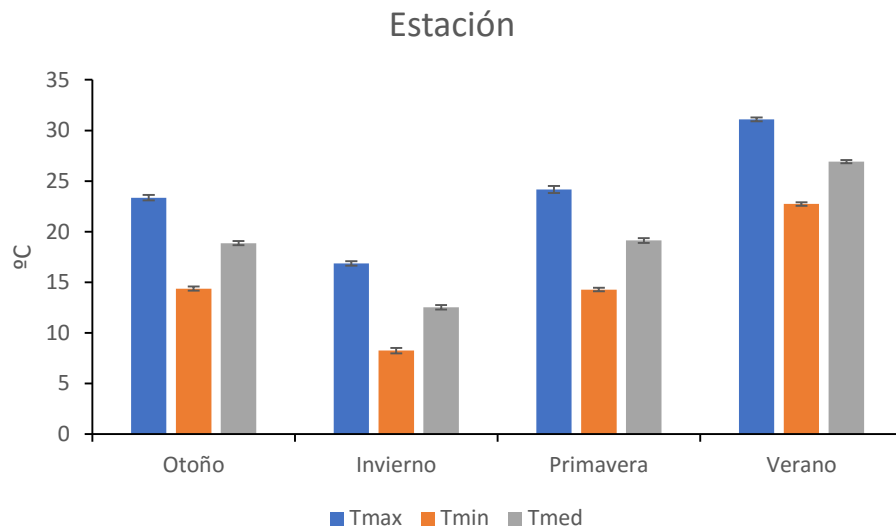


Figura A2.4. Promedio de la temperatura máxima, mínima y media diaria (Tmax, Tmin y Tmed, respectivamente) en cada estación. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 727 muestras.

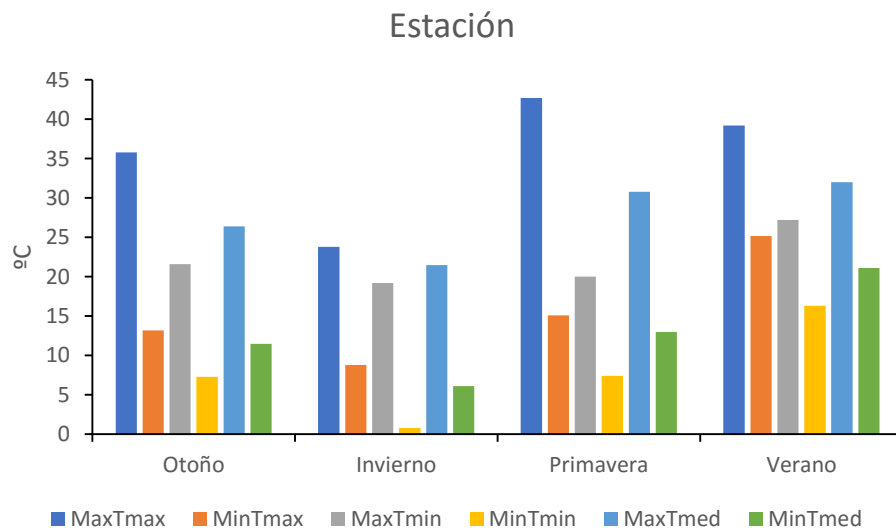


Figura A2.5. Temperatura máxima y mínima de Tmax, Tmin y Tmed: temperatura máxima de las temperaturas máximas diarias (MaxTmax); temperatura mínima de las temperaturas máximas diarias (MinTmax); tempera máxima de las temperaturas mínimas diarias (MaxTmin); temperatura mínima de las temperaturas mínimas diarias (MinTmin); temperatura máxima de las temperaturas medias diarias (MaxTmed); y temperatura mínima de las temperaturas medias diarias para cada estación (MinTmed). n=727.



Respecto a la diferencia entre las temperaturas máximas diarias y mínimas diarias ( $T_{max}-T_{min}$ ), máximas diarias y medias diarias ( $T_{max}-T_{med}$ ) y mínimas diarias y medias diarias ( $T_{min}-T_{med}$ ) (Fig. A2.6) los valores siempre estuvieron en torno a  $9^{\circ}\text{C}$  para  $T_{max}-T_{min}$  y de  $4^{\circ}\text{C}$  de diferencia para  $T_{max}-T_{med}$  y  $T_{min}-T_{med}$  excepto en primavera donde se incrementaron ligeramente.  $T_{max}-T_{min}$  presentó  $9.9^{\circ}\text{C}$  de diferencia respecto a los  $9$ ,  $8.6$  y  $8.4^{\circ}\text{C}$  de diferencia de invierno, otoño y verano, respectivamente. Respecto a  $T_{max}-T_{med}$  la diferencia en primavera fue de  $5^{\circ}\text{C}$  mientras que de  $4.5$ ,  $4.3$  y  $4.2$  en otoño, invierno y verano, respectivamente. Finalmente, la diferencia entre  $T_{min}-T_{med}$  en primavera fue de  $-4.8^{\circ}\text{C}$  mientras que de  $-4.5$ ,  $-4.3$  y  $-4.2$  en otoño, invierno y verano, respectivamente.

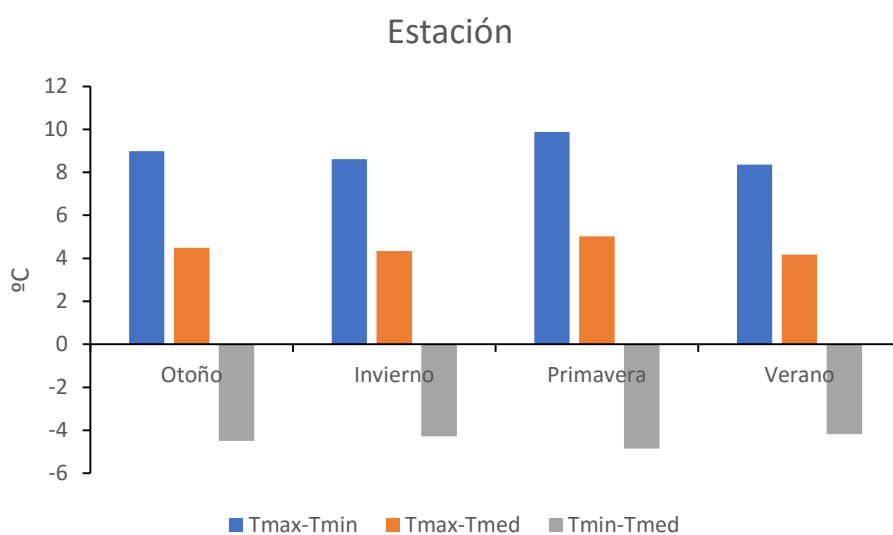


Figura A2.6. Promedio de la temperatura máxima diaria- promedio de la temperatura mínima diaria ( $T_{max}-T_{min}$ ); promedio de la temperatura máxima diaria-promedio de la temperatura media diaria ( $T_{max}-T_{med}$ ); y promedio de la temperatura mínima diaria-promedio de la temperatura media diaria ( $T_{min}-T_{med}$ ) para cada estación.  $n=727$ .

Finalmente, el segundo año (Figs. A2.7-8) fue, aproximadamente, un  $1^{\circ}\text{C}$  más frío respecto al primero considerando  $T_{max}$ ,  $T_{min}$  y  $T_{med}$  (Fig. A2.7). En cuanto a las temperaturas máximas y mínimas de las temperaturas máximas, mínimas y medias diarias se observó una bajada de temperaturas en el segundo año respecto al primero de  $4.2^{\circ}\text{C}$  para  $MaxT_{max}$  y  $1.6^{\circ}\text{C}$  para  $MaxT_{min}$  y  $MaxT_{med}$ . Sin embargo,  $MinT_{max}$ ,  $MinT_{min}$  y  $MinT_{med}$  subieron en el segundo año  $3.5$ ,  $1.6$  y  $1.3^{\circ}\text{C}$ , respectivamente (Fig. A2.8).

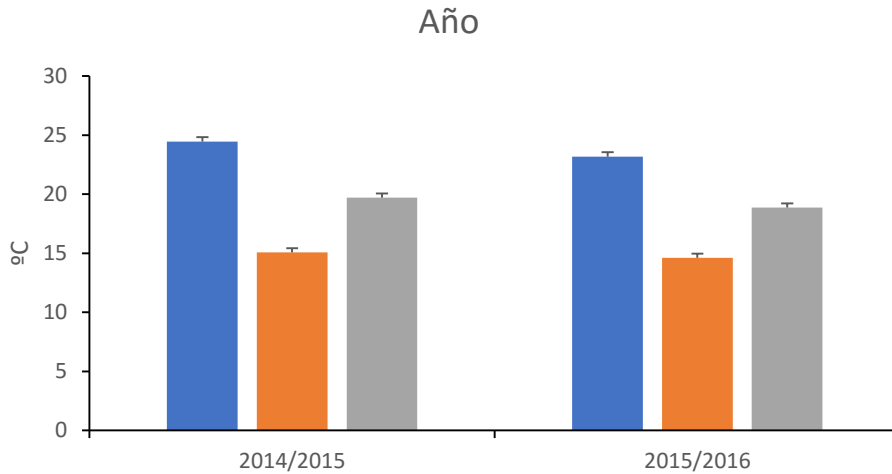


Figura A2.7. Promedio de la temperatura máxima, mínima y media diaria (Tmax, Tmin y Tmed, respectivamente) en cada año. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 727 muestras.

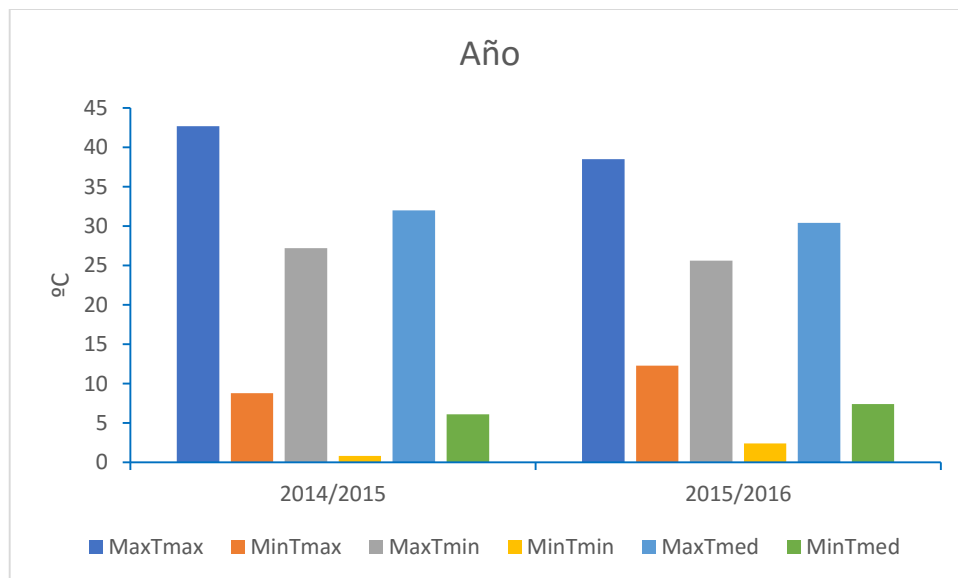


Figura A2.8. Temperatura máxima y mínima de Tmax, Tmin y Tmed: temperatura máxima de las temperaturas máximas diarias (MaxTmax); temperatura mínima de las temperaturas máximas diarias (MinTmax); temperatura máxima de las temperaturas mínimas diarias (MaxTmin); temperatura mínima de las temperaturas mínimas diarias (MinTmin); temperatura máxima de las temperaturas medias diarias (MaxTmed); y temperatura mínima de las temperaturas medias diarias para cada año (MinTmed). n=727.

Respecto a la diferencia entre las temperaturas máximas diarias y mínimas diarias (Tmax-Tmin), máximas diarias y medias diarias (Tmax-Tmed) y mínimas diarias y medias diarias (Tmin-Tmed) (Fig. A2.9) los valores fueron inferiores durante el segundo año. 0.8, 0.4 y 0.4°C inferior para Tmax-Tmin, Tmax-Tmed y Tmin-Tmed, respectivamente, de diferencia entre el segundo y primer año de estudio.



Figura A2.9. Promedio de la temperatura máxima diaria- promedio de la temperatura mínima diaria (Tmax-Tmin); promedio de la temperatura máxima diaria-promedio de la temperatura media diaria (Tmax-Tmed); y promedio de la temperatura mínima diaria-promedio de la temperatura media diaria (Tmin-Tmed) para cada año. n=727.

#### A2.2. Precipitaciones

Respecto a las precipitaciones según las localidades, estaciones y años (Figs. A2.10-15), puede considerarse que siempre se mostró el mismo patrón: las precipitaciones fueron discontinuas, acaparando en un solo día más del 10% de las precipitaciones totales (Figs. A2.2.10,12,14). Por ejemplo, en la localidad de “La Garrofera” en un solo día llovieron 56.7 mm respecto a los 187.1 mm totales (Fig. A2.10). Del mismo modo, los días que superaron los 5mm de precipitación representaron menos del 25% de los días en que llovió (Figs. A2.11,13,15).

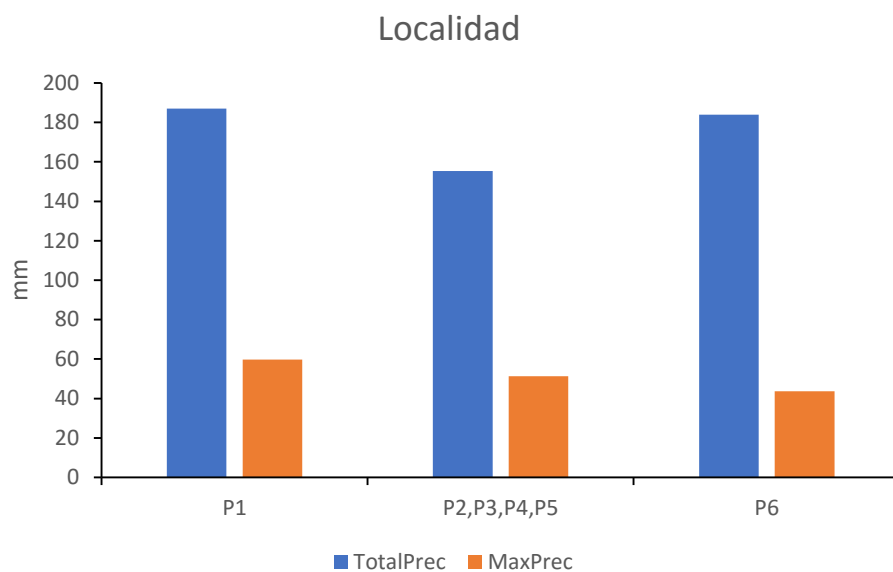


Figura A2.10. Precipitación total y máxima (TotalPrec y MaxPrec, respectivamente) en cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. n=739.

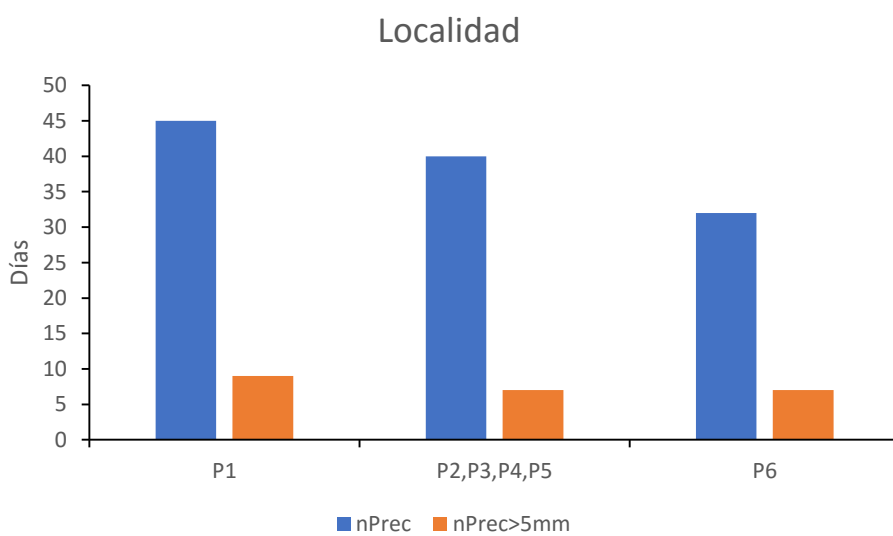


Figura A2.11. Número de días con lluvia y número de días con lluvia>5mm (nPrec y nPrec>5mm, respectivamente) en cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. n=739.

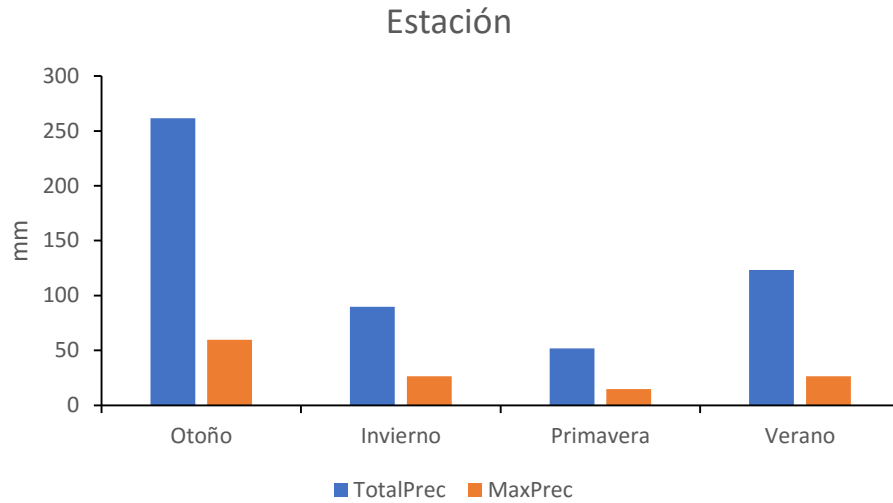


Figura A2.12. Precipitación total y máxima (TotalPrec y MaxPrec, respectivamente) en cada estación. n=739.

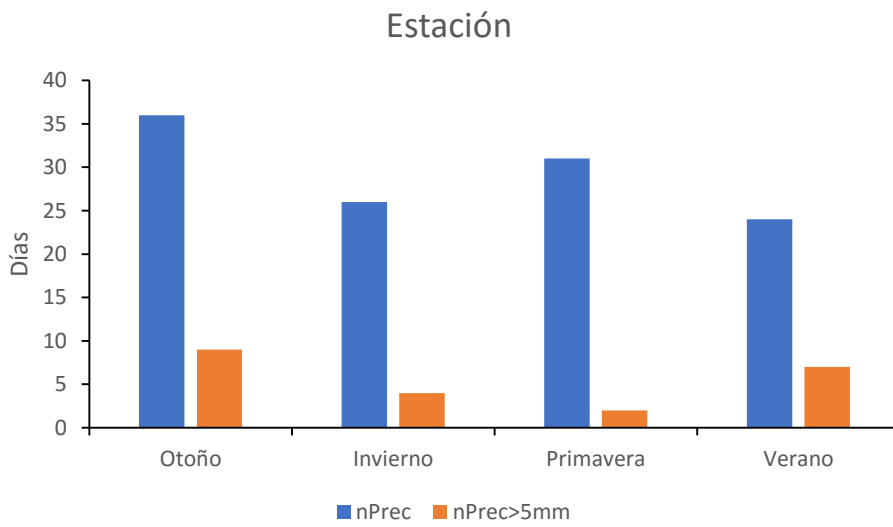


Figura A2.13. Número de días con lluvia y número de días con lluvia>5mm (nPrec y nPrec>5mm, respectivamente) en cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. n=739.

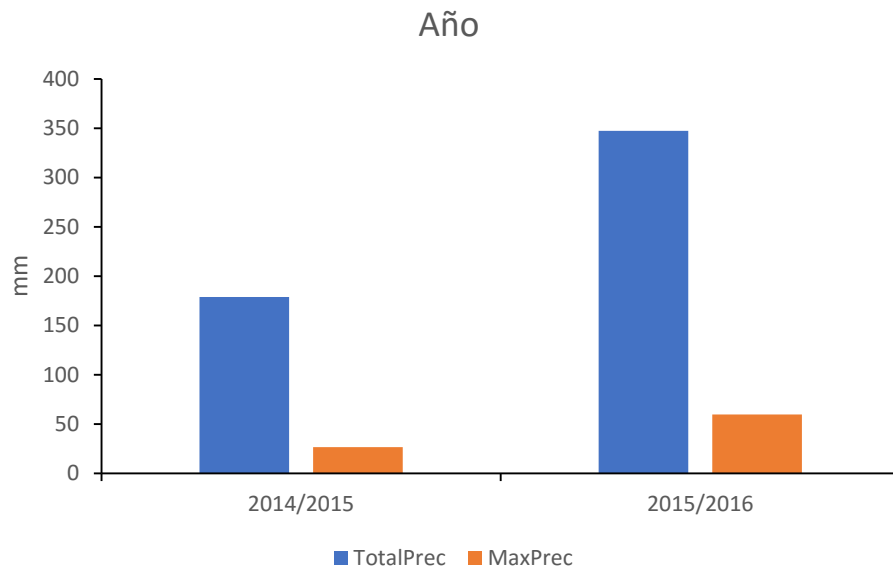


Figura A2.14. Precipitación total y máxima (TotalPrec y MaxPrec, respectivamente) en cada año. n=739.

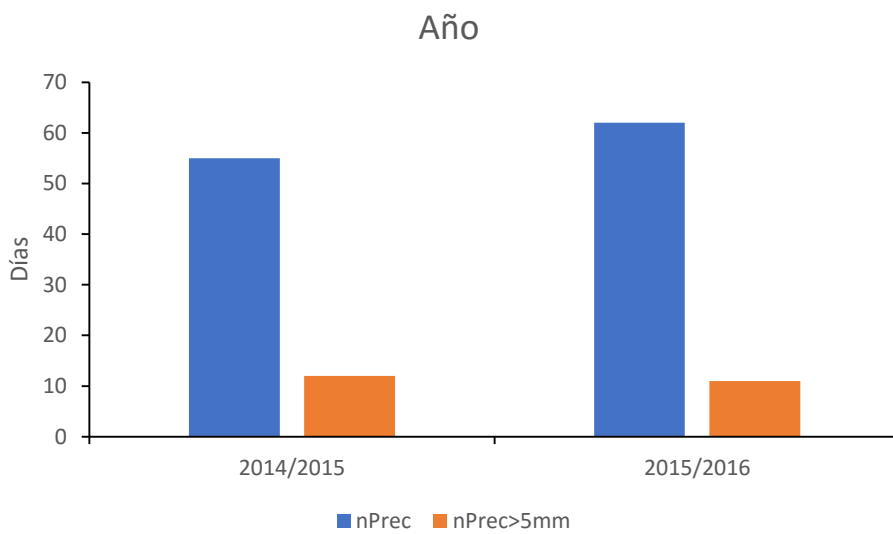


Figura A2.15. Número de días con lluvia y número de días con lluvia>5mm (nPrec y nPrec>5mm, respectivamente) en cada año. n=739.

### A2.3. Viento

Finalmente, respecto a las localidades, estaciones y años considerando el viento (Figs. A2.16-18), el patrón fue bastante similar. La racha diaria (Racha) de viento estuvo alrededor de 30 Km/h en todas las localidades, estaciones y años. Tan solo durante el otoño bajó de los 28 Km/h (Fig. A2.17). En cuanto a la racha máxima (RachaMax) fue muy similar entre “La Garrofera” (68 Km/h) y “Burguera” (69 Km/h) y ligeramente inferior en las otras localidades (62.9 Km/h); entre las estaciones fue bastante similar entre otoño, primavera y verano (alrededor de 60 Km/h) mientras que en invierno se incrementó (81.4 Km/h); y durante el primer año RachaMax fue superior respecto al segundo en poco más de 10 Km/h. RachaMin siempre tuvo valores de 9-14 Km/h (Figs. A2.16-18).

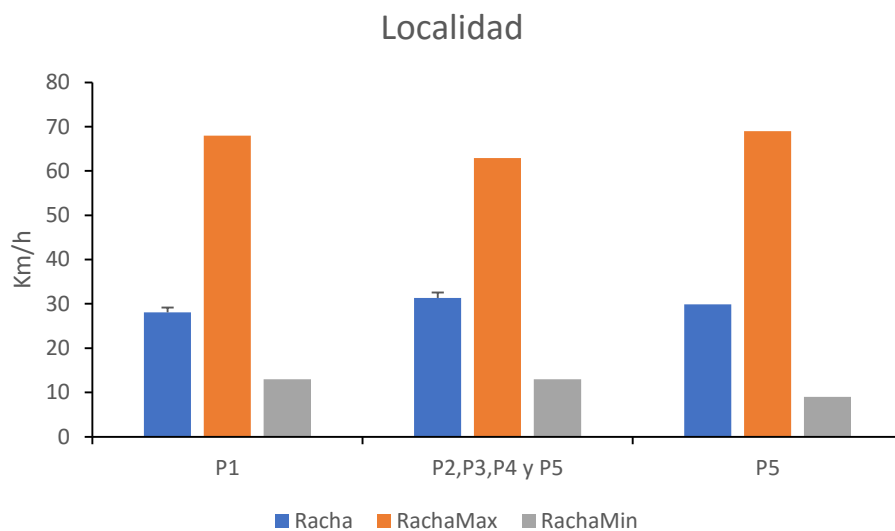


Figura A2.16. Promedio de la racha diaria de viento, racha máxima y mínima (Racha, RachaMax y RachaMin, respectivamente) en cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 739 muestras.

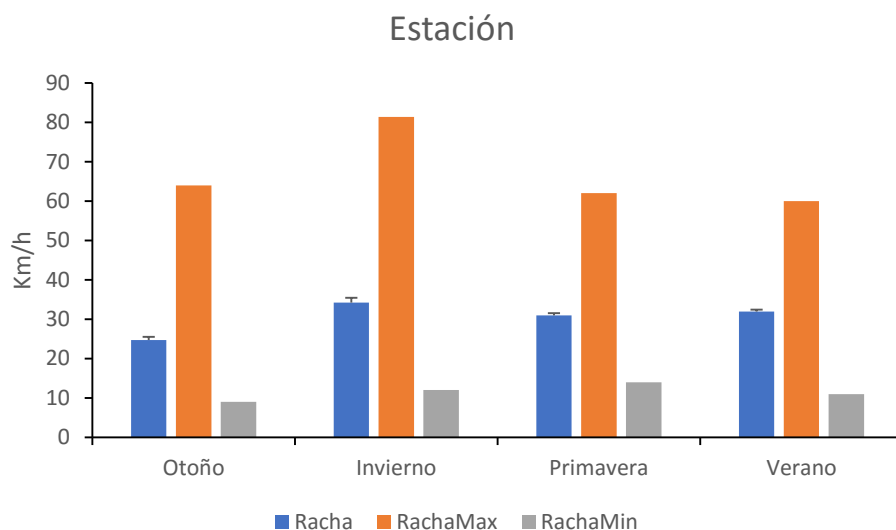


Figura A2.17. Promedio de la racha diaria de viento, racha máxima y mínima (Racha, RachaMax y RachaMin, respectivamente) en cada estación. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 739 muestras.

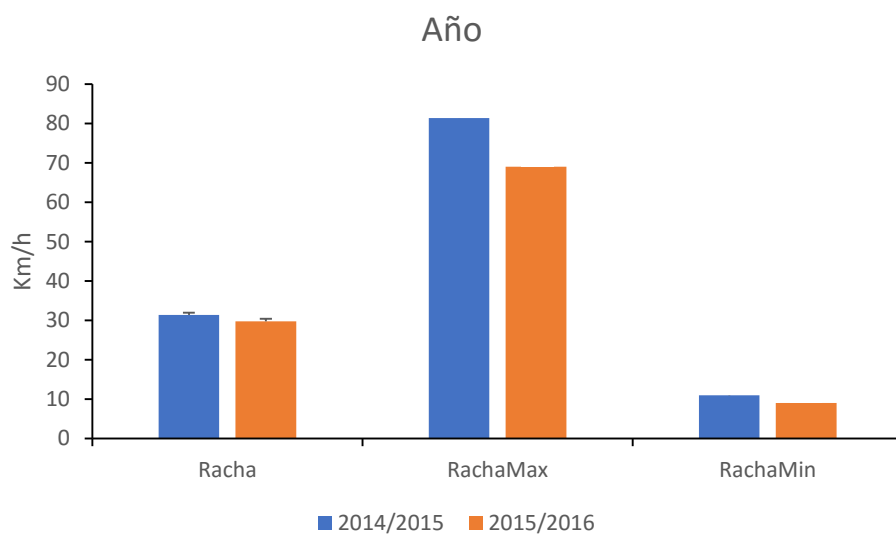


Figura A2.18. Promedio de la racha diaria de viento, racha máxima y mínima (Racha, RachaMax y RachaMin, respectivamente) en cada año. Los datos son la media  $\pm$  error estándar (SE) de 727 muestras.



## Anexo III

### A3.1. Paisaje

En las Figs. A3.1-6 se muestra cómo el uso del suelo en las localidades estudiadas cambió de ser agrícola a urbanizable entre los años 1956-2000 excepto en “Sant Antoni” donde los cultivos están abandonados. Durante el año 2004 todo el litoral estudiado sufrió una fuerte erosión marina y entre los años 2010-2014 en todas las localidades se produjeron labores de restauración excepto en “El Perelló” y “Sant Antoni”.

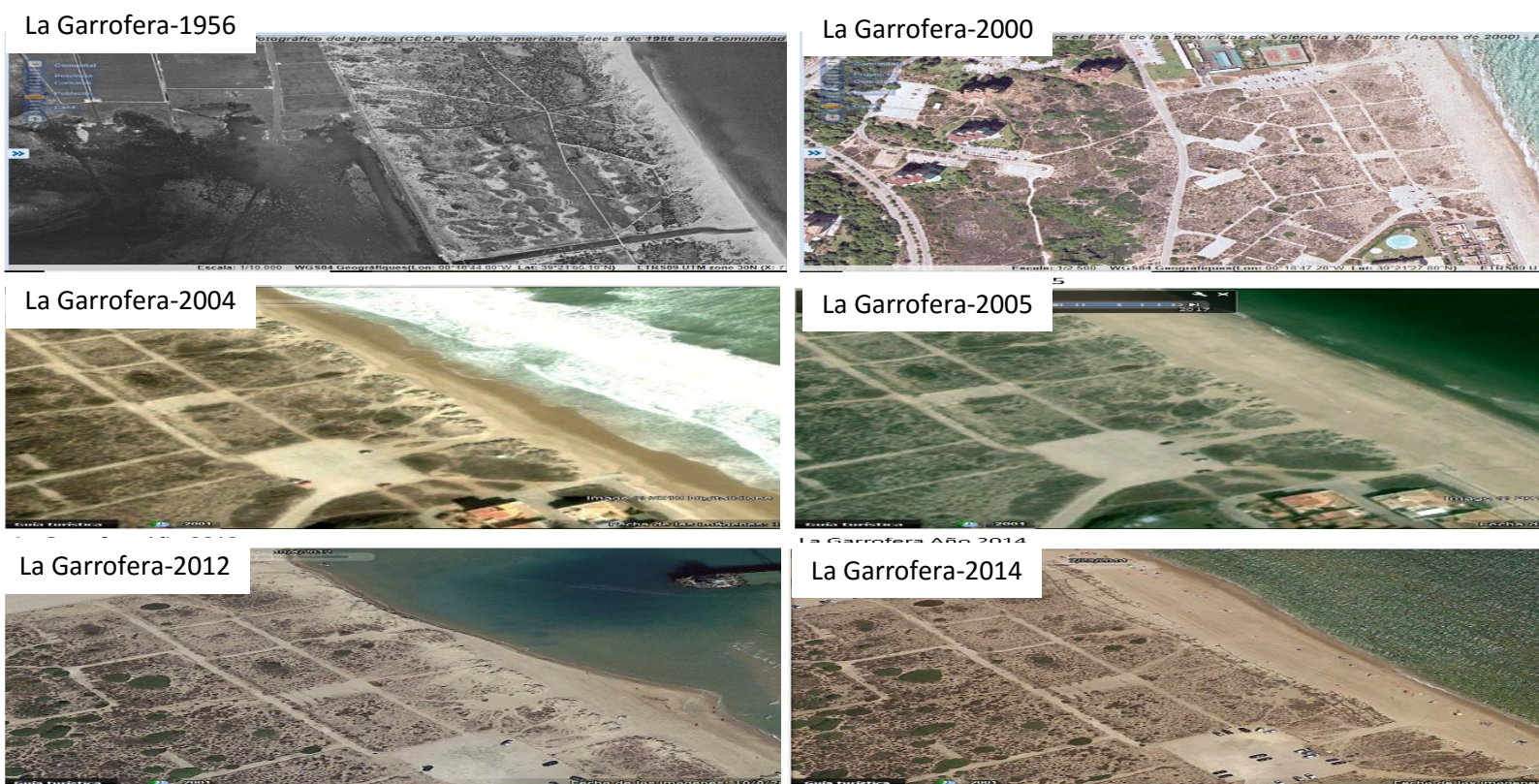


Figura A3.1 Evolución histórica de “La Garrofera” (1956-2014).

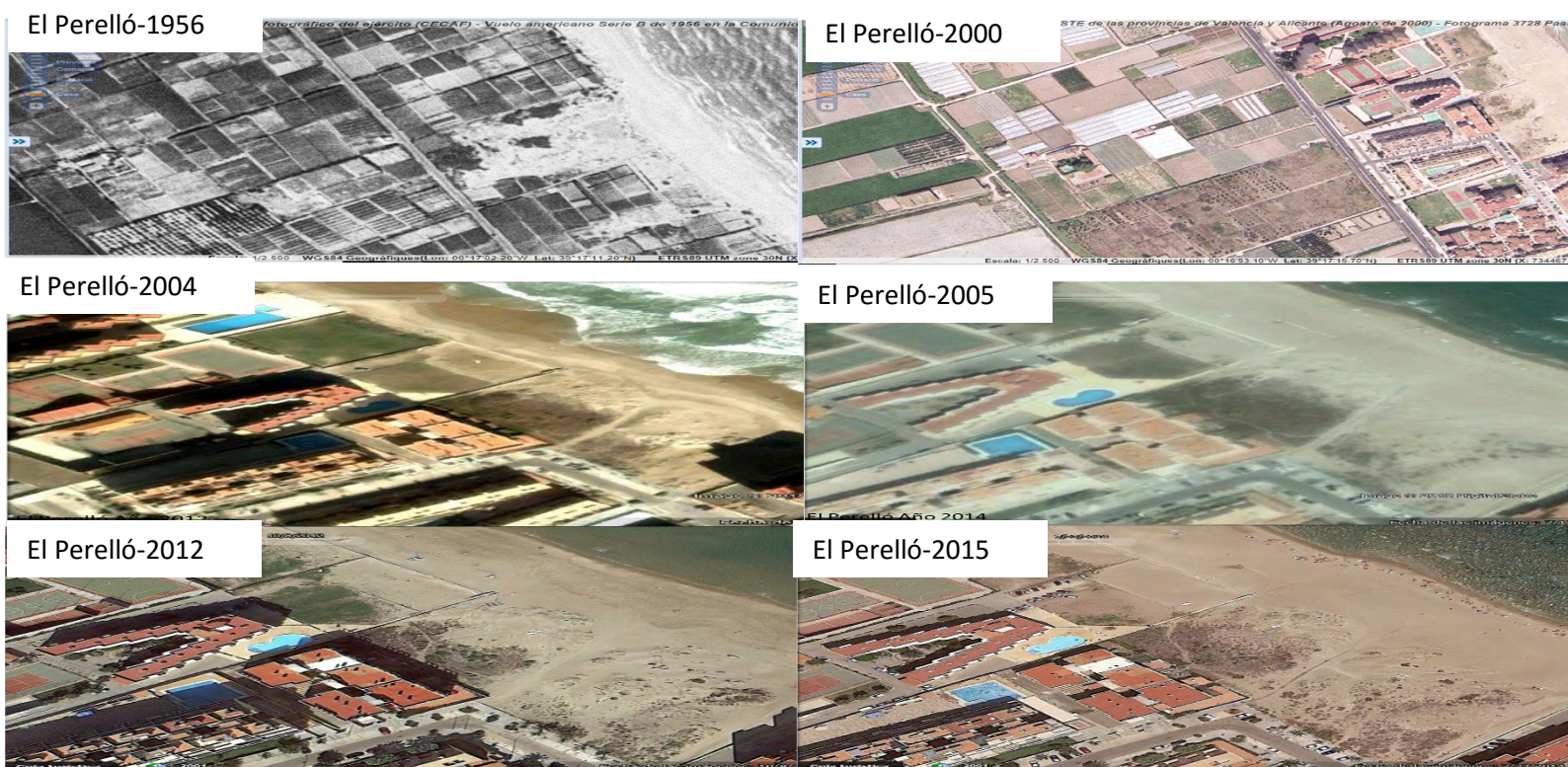


Figura A3.2 Evolución histórica de “El Perelló” (1956-2014).



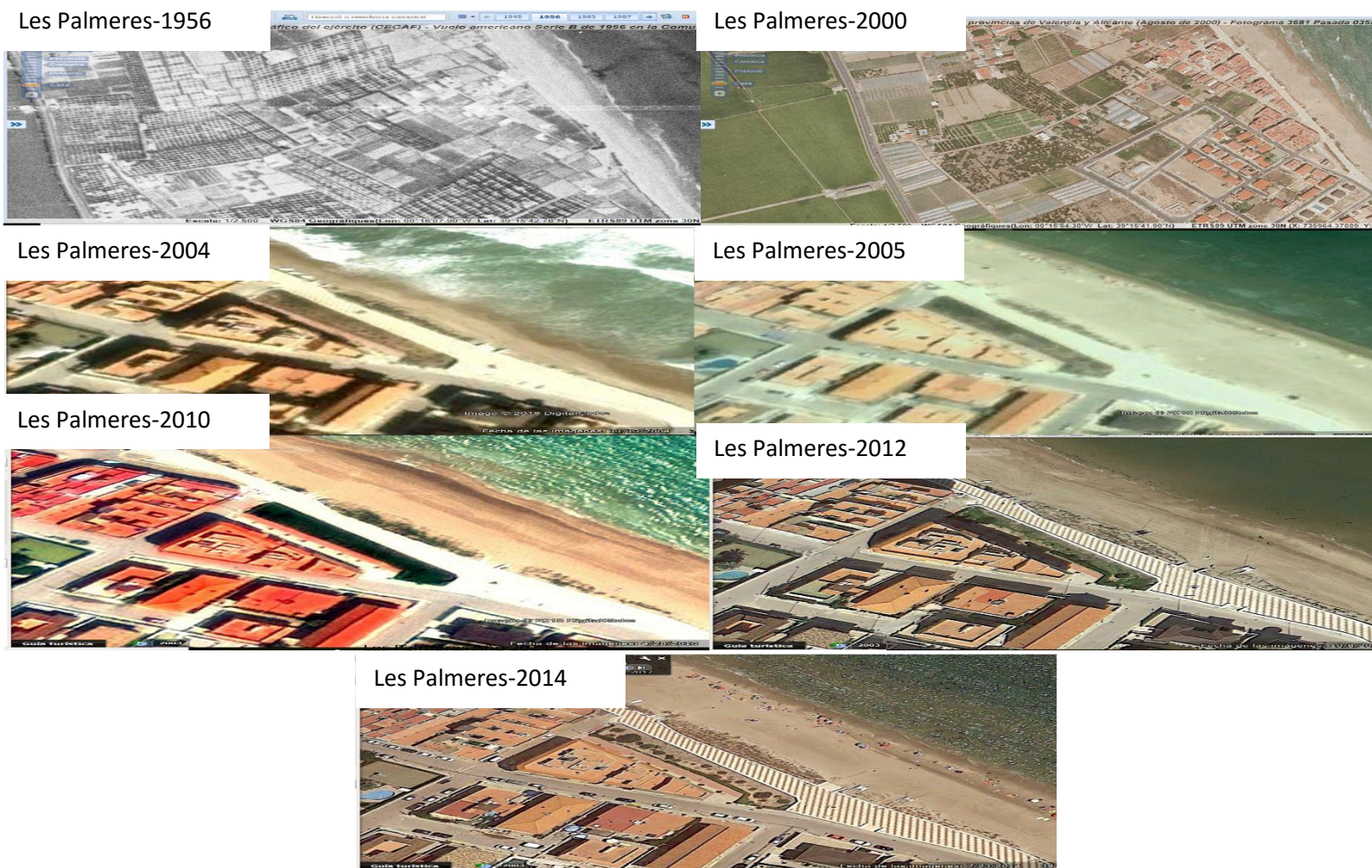


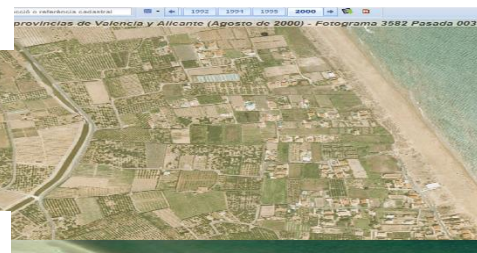
Figura A3.3 Evolución histórica de “Les Palmeres” (1956-2014).



El Dosser-1956



El Dosser-2000



El Dosser-2004



El Dosser-2005



El Dosser-2011



El Dosser-2012



El Dosser-2014



Figura A3.4 Evolución histórica de “El Dosser” (1956-2014).

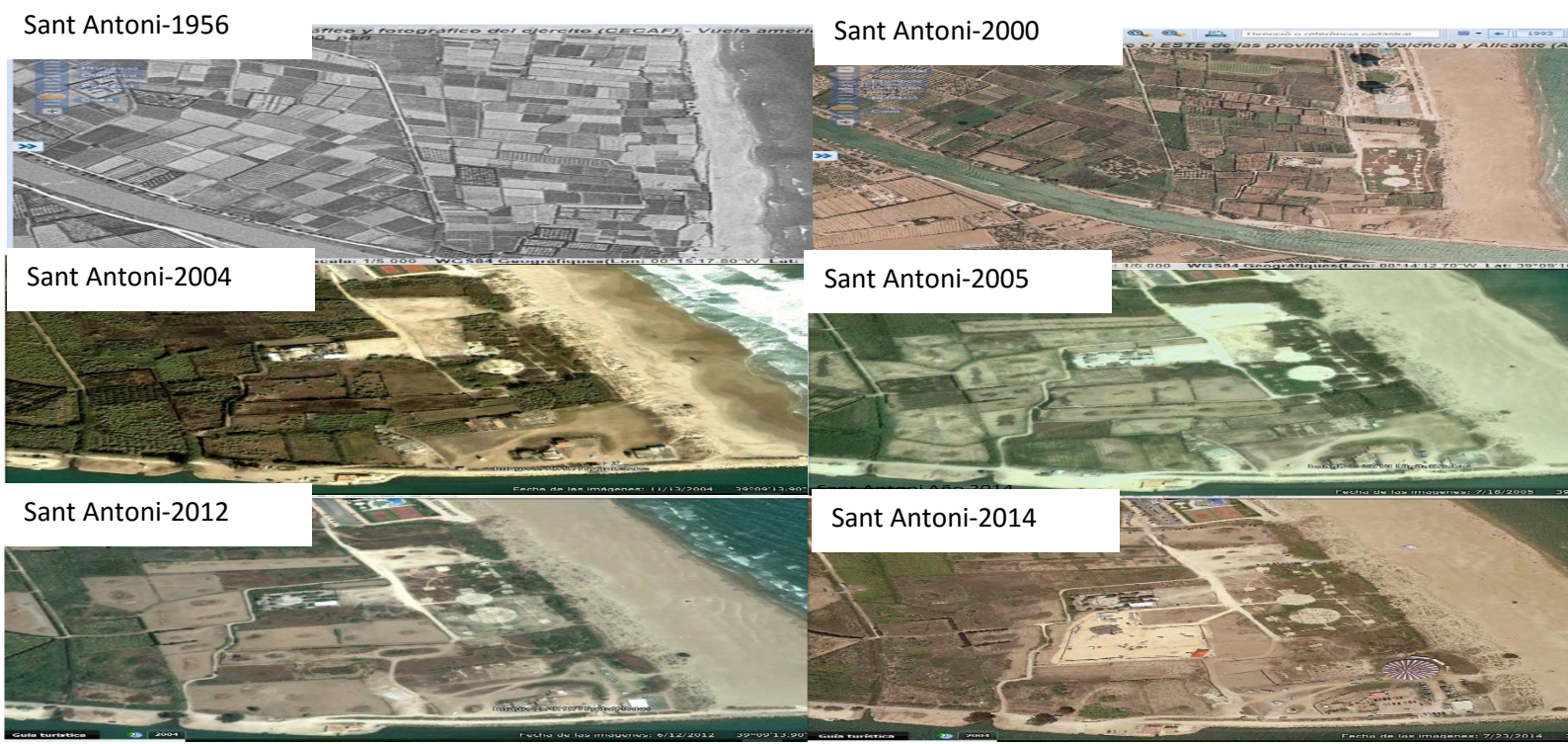


Figura A3.5 Evolución histórica de “Sant Antoni” (1956-2014).



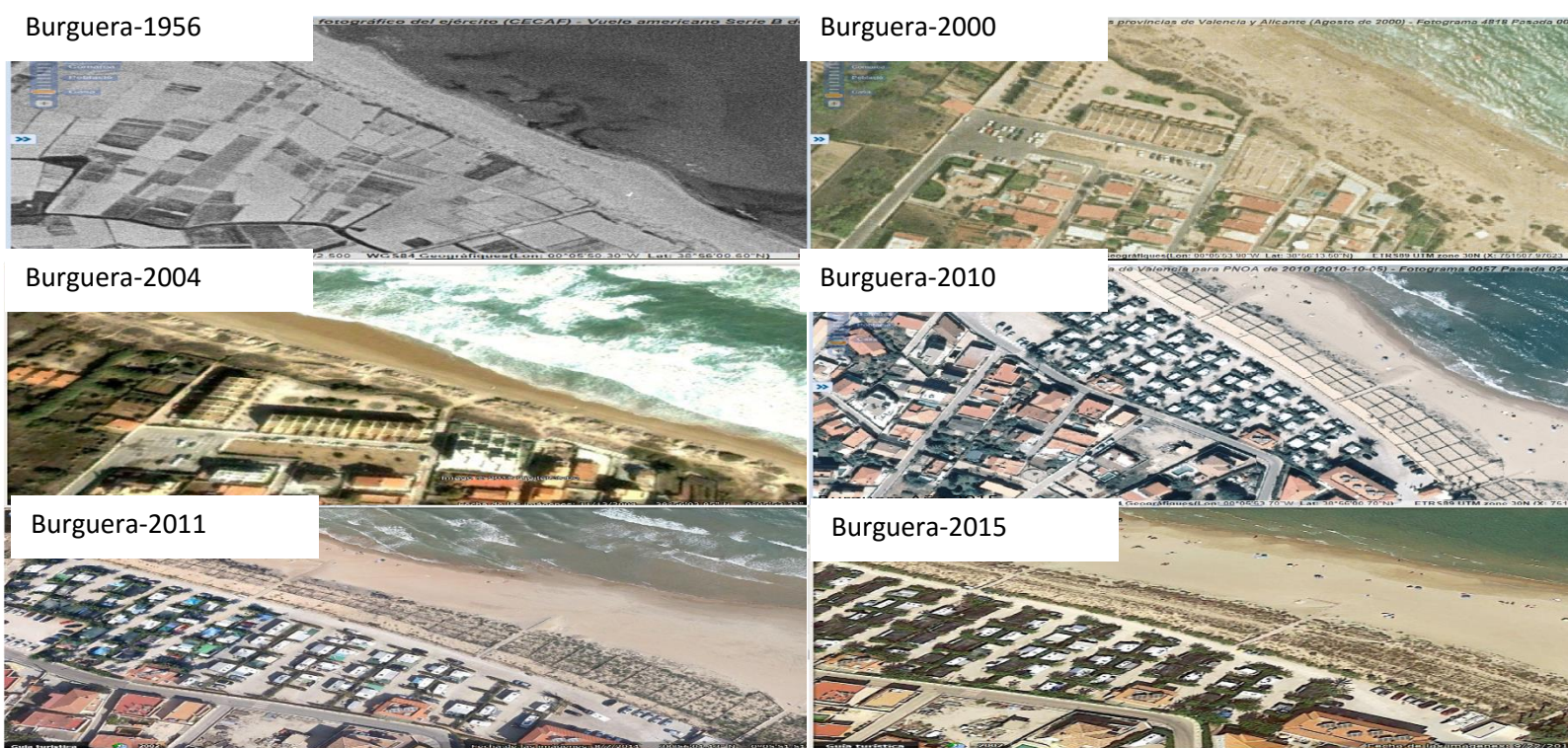


Figura A3.6 Evolución histórica de “Burguera” (1956-2015).

La composición florística entre las dunas embrionarias, móviles y el ecotono (Tablas A3.1-3) presentó diferencias importantes. En las dunas embrionarias de cada localidad hubo una vegetación muy restringida mientras que en las dunas móviles y el ecotono el número de especies vegetales aumentó. El número de especies fue máximo en las dunas fijas (Tabla A3.4). Para consultar el nombre completo de las especies vegetales mirar la Tabla A3.5.

Tabla A3.1. Composición florística de dunas embrionarias de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Doser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. El nombre científico completo de las especies vegetales se muestra en la Tabla A3.4.5.

| Familia        | Especie Vegetal                      | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
|----------------|--------------------------------------|----|----|----|----|----|----|
| Brassicaceae   | <i>Cakile maritima</i>               | -  | 1  | 1  | -  | 1  | -  |
| Convolvulaceae | <i>Calystegia soldanella</i>         | 1  | -  | 1  | 1  | 1  | 1  |
| Fabaceae       | <i>Medicago marina</i>               | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Poaceae        | <i>Elymus farctus subsp. farctus</i> | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Sporobolus pungens</i>            | -  | -  | -  | -  | 1  | 1  |

Tabla A3.2. Composición florística del ecotono de cada localidad. P1: "La Garrofera"; P2: "El Perelló"; P3: "Les Palmeres"; P4: "El Dosser"; P5: "Sant Antoni"; y P6: "Burguera". El nombre científico completo de las especies vegetales se muestra en la Tabla A3.4.5.

| Familia        | Especie Vegetal  | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
|----------------|--|----|----|----|----|----|----|
| Brassicaceae   | <i>Cakile maritima</i>                                 | 1  | 1  | 1  | -  | -  | -  |
|                | <i>Salsola kali</i>                                    | 1  | 1  | 1  | -  | -  | -  |
| Convolvulaceae | <i>Calystegia soldanella</i>                           | 1  | -  | -  | 1  | 1  | -  |
|                | <i>Lotus creticus</i>                                  | 1  | 1  | -  | 1  | -  | 1  |
| Poaceae        | <i>Elymus farctus</i> subsp.<br><i>farctus</i>         | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Ammophila arenaria</i> subsp.<br><i>arundinacea</i> | -  | -  | -  | -  | 1  | -  |
|                | <i>Sporobolus pungens</i>                              | -  | -  | -  | -  | 1  | 1  |

Tabla A3.3. Composición florística de dunas móviles de cada localidad. P1: "La Garrofera"; P2: "El Perelló"; P3: "Les Palmeres"; P4: "El Dosser"; P5: "Sant Antoni"; y P6: "Burguera". El nombre científico completo de las especies vegetales se muestra en la Tabla A3.4.5.

| Familia        | Especie Vegetal  | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
|----------------|--|----|----|----|----|----|----|
| Amarillaceae   | <i>Pancratium maritimum</i>                            | 1  | -  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Aizoaceae      | <i>Carpobrotus edulis</i>                              | -  | 1  | -  | 1  | -  | -  |
| Boraginaceae   | <i>Echium sabulicola</i>                               | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Brassicaceae   | <i>Cakile maritima</i>                                 | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Malcolmia littorea</i>                              | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Convolvulaceae | <i>Calystegia soldanella</i>                           | 1  | -  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Cyperaceae     | <i>Cyperus capitatus</i>                               | 1  | -  | -  | 1  | -  | -  |
| Euphorbiaceae  | <i>Euphorbia terracina</i>                             | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Fabaceae       | <i>Lotus creticus</i>                                  | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Medicago marina</i>                                 | 1  | -  | -  | 1  | -  | -  |
| Poaceae        | <i>Elymus farctus</i> subsp.<br><i>farctus</i>         | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Ammophila arenaria</i> subsp.<br><i>arundinacea</i> | 1  | -  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Sporobolus pungens</i>                              | 1  | 1  | -  | -  | 1  | 1  |

Tabla A3.4. Composición florística de dunas fijas de cada localidad. P1: “La Garrofera”; P2: “El Perelló”; P3: “Les Palmeres”; P4: “El Dosser”; P5: “Sant Antoni”; y P6: “Burguera”. El nombre científico completo de las especies vegetales se muestra en la Tabla A3.4.5.

| Familia        | Especie Vegetal                              | P1 | P2 | P3 | P4 | P5 | P6 |
|----------------|--|----|----|----|----|----|----|
| Amarillaceae   | <i>Pancratium maritimum</i>                  | 1  | -  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Asparagaceae   | <i>Agave americana</i>                       | 1  | -  | -  | -  | -  | 1  |
| Asteraceae     | <i>Heliochrysum stoechas</i>                 | 1  | -  | -  | -  | -  | 1  |
| Aizoaceae      | <i>Carpobrotus edulis</i>                    | -  | 1  | -  | 1  | -  | -  |
|                | <i>Centaurea seridis subsp. jacobii</i>      | -  | 1  | -  | 1  | 1  | -  |
|                | <i>Centaurea aspera subsp. stenophylla</i>   | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
|                | <i>Launaea resedifolia</i>                   | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Boraginaceae   | <i>Crucianella maritima</i>                  | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
|                | <i>Echium sabulicola</i>                     | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Brassicaceae   | <i>Cakile maritima</i>                       | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Malcolmia littorea</i>                    | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Salsola kali</i>                          | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  | 1  |
| Cistaceae      | <i>Halimium halimifolium</i>                 | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Convolvulaceae | <i>Calystegia soldanella</i>                 | 1  | -  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Crassulaceae   | <i>Sedum sediforme</i>                       | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Cyperaceae     | <i>Cyperus capitatus</i>                     | 1  | -  | -  | 1  | -  | -  |
| Dipsacaceae    | <i>Scabiosa atropurpurea</i>                 | 1  | -  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Ephedraceae    | <i>Ephedra distachya</i>                     | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Euphorbiaceae  | <i>Euphorbia terracina</i>                   | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Fabaceae       | <i>Ononis natrix subsp. ramosissima</i>      | 1  | -  | -  | -  | -  | 1  |
|                | <i>Lotus creticus</i>                        | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Medicago marina</i>                       | 1  | -  | -  | 1  | -  | -  |
| Geraniaceae    | <i>Erodium laciniatum</i>                    | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
| Oleaceae       | <i>Phillyrea angustifolia</i>                | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
|                | <i>Rhamnus oleoides</i>                      | 1  | -  | -  | -  | -  | -  |
| Poaceae        | <i>Elymus farctus subsp. farctus</i>         | 1  | 1  | -  | 1  | 1  | 1  |
|                | <i>Ammophila arenaria subsp. arundinacea</i> | 1  | -  | -  | -  | 1  | -  |
|                | <i>Sporobolus pungens</i>                    | 1  | 1  | -  | -  | 1  | 1  |



| Tabla A3.5. Nomenclatura completa de cada especie vegetal encontrada. |  |  |
|---|--|--|
| Familia   | Especie Vegetal                              | Autoría  |
| Amarillaceae  | <i>Pancratium maritimum</i>                  | L.   |
| Asparagaceae  | <i>Agave americana</i>                       | L.   |
| Asteraceae  | <i>Heliochrysum stoechas</i>                 | (L.) Moench  |
| Aizoaceae   | <i>Carpobrotus edulis</i>                    | (L.) N.E.Br.   |
|   | <i>Centaurea seridis subsp. jacobii</i>      | (Dufour) Ferrer-Gallego, Roselló, Laguna, Guillén, Gómez Nav. & Peris, |
|   | <i>Centaurea aspera subsp. stenophylla</i>   | (Dufour) Nyman   |
|   | <i>Launaea resedifolia</i>                   | Druce  |
| Boraginaceae  | <i>Crucianella maritima</i>                  | L.   |
|   | <i>Echium sabulicola</i>                     | Pomel  |
| Brassicaceae  | <i>Cakile marítima subsp. aegyptica</i>      | (L.) Nyman   |
|   | <i>Malcolmia littorea</i>                    | (L.) R.Br.   |
|   | <i>Salsola kali</i>                          | L.   |
| Cistaceae   | <i>Halimium halimifolium</i>                 | L. Willk.  |
| Convolvulaceae  | <i>Calystegia soldanella</i>                 | (L.) R. Br.  |
| Crassulaceae  | <i>Sedum sediforme</i>                       | (Jacq.) Pau  |
| Cyperaceae  | <i>Cyperus capitatus</i>                     | Vand.  |
| Dipsacaceae   | <i>Scabiosa maritima</i>                     | L.   |
| Ephedraceae   | <i>Ephedra distachya</i>                     | L.   |
| Euphorbiaceae   | <i>Euphorbia terracina</i>                   | L.   |
| Fabaceae  | <i>Ononis natrix subsp. ramosissima</i>      | (Desf.) Batt.  |
|   | <i>Lotus creticus</i>                        | L.   |
|   | <i>Medicago marina</i>                       | L.   |
| Geraniaceae   | <i>Erodium laciniatum subsp. laciniatum</i>  | (Cav.) Willd.  |
| Oleaceae  | <i>Phillyrea angustifolia</i>                | L.   |
|   | <i>Rhamnus oleoides</i>                      | L.   |
| Poaceae   | <i>Elymus farctus subsp. farctus</i>         | (Viv.) Runemark ex Melderis  |
|   | <i>Ammophila arenaria subsp. arundinacea</i> | H.Lindb.   |
|   | <i>Sporobolus pungens</i>                    | (Schreb.) Kunth  |

En la Tabla suplementaria S1 se presenta el listado de las variables paisajísticas utilizadas junto con sus abreviaturas.

Anexo IV

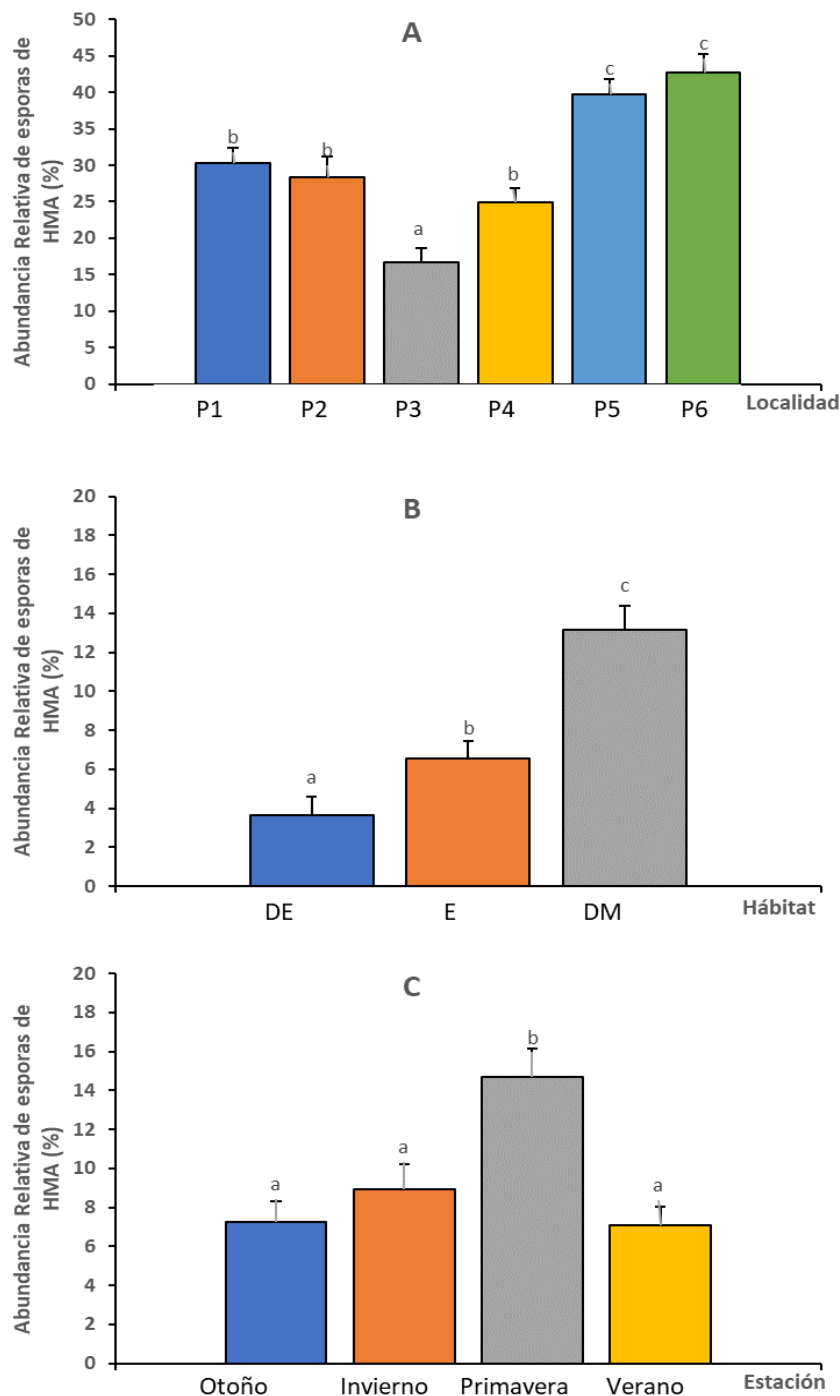


Figura A4.1. Abundancia Relativa de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando todas las especies vegetales. P1, “La Garrofera” (n=280); P2, “El Perelló” (n=160); P3, “Les Palmeres” (n=200); P4, “El Dosser” (n=315); P5, “Sant Antoni” (n=280); y P6, “Burguera” (n=240). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=480); y DM, dunas móviles (n=760). Otoño (n=365); Invierno (n=370); Primavera (n=370); y Verano (n=370). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras. Para cada variable, las columnas con letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) según la prueba de Tukey.

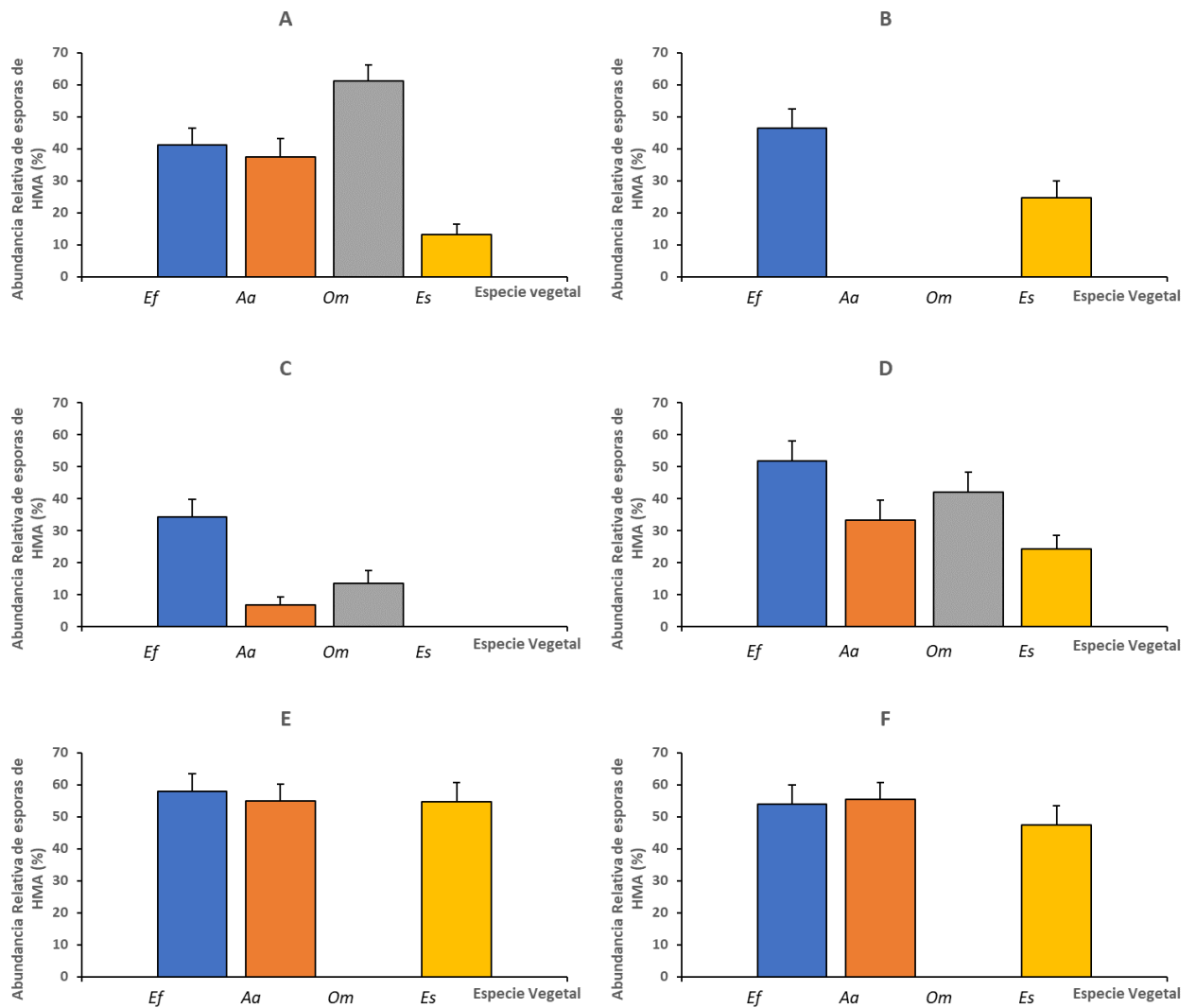


Figura A4.2. Abundancia Relativa de esporas de HMA (%) en cada especie vegetal en las dunas móviles de cada localidad. A) "La Garrofera"; B) "El Perelló"; C) "Les Palmeres"; D) "El Dosser"; E) "Sant Antoni"; y F) "Burguera". *Elymus farctus* (*Ef*); *Ammophila arenaria* (*Aa*); *Otanthus maritimus* (*Om*); y *Echinophora spinosa* (*Es*). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de 40 muestras.

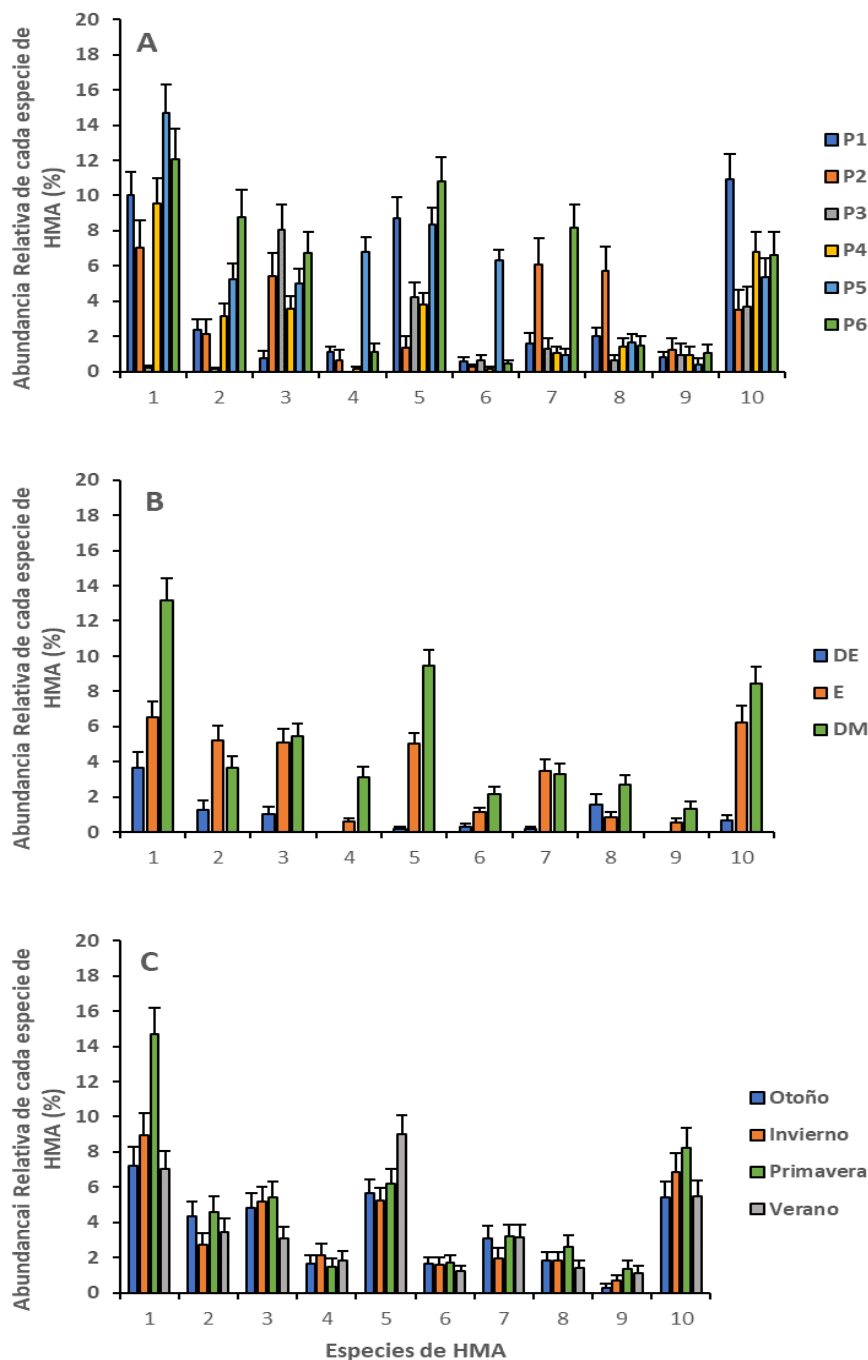


Figura A4.3. Abundancia Relativa de cada especie de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando todas las especies vegetales. P1, “La Garrofera” (n=280); P2, “El Perelló” (n=160); P3, “Les Palmeres” (n=200); P4, “El Dossier” (n=315); P5, “Sant Antoni” (n=280); y P6, “Burguera” (n=240). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=480); y DM, dunas móviles (n=760). Otoño (n=365); Invierno (n=370); Primavera (n=370); y Verano (n=370). Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbioglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.

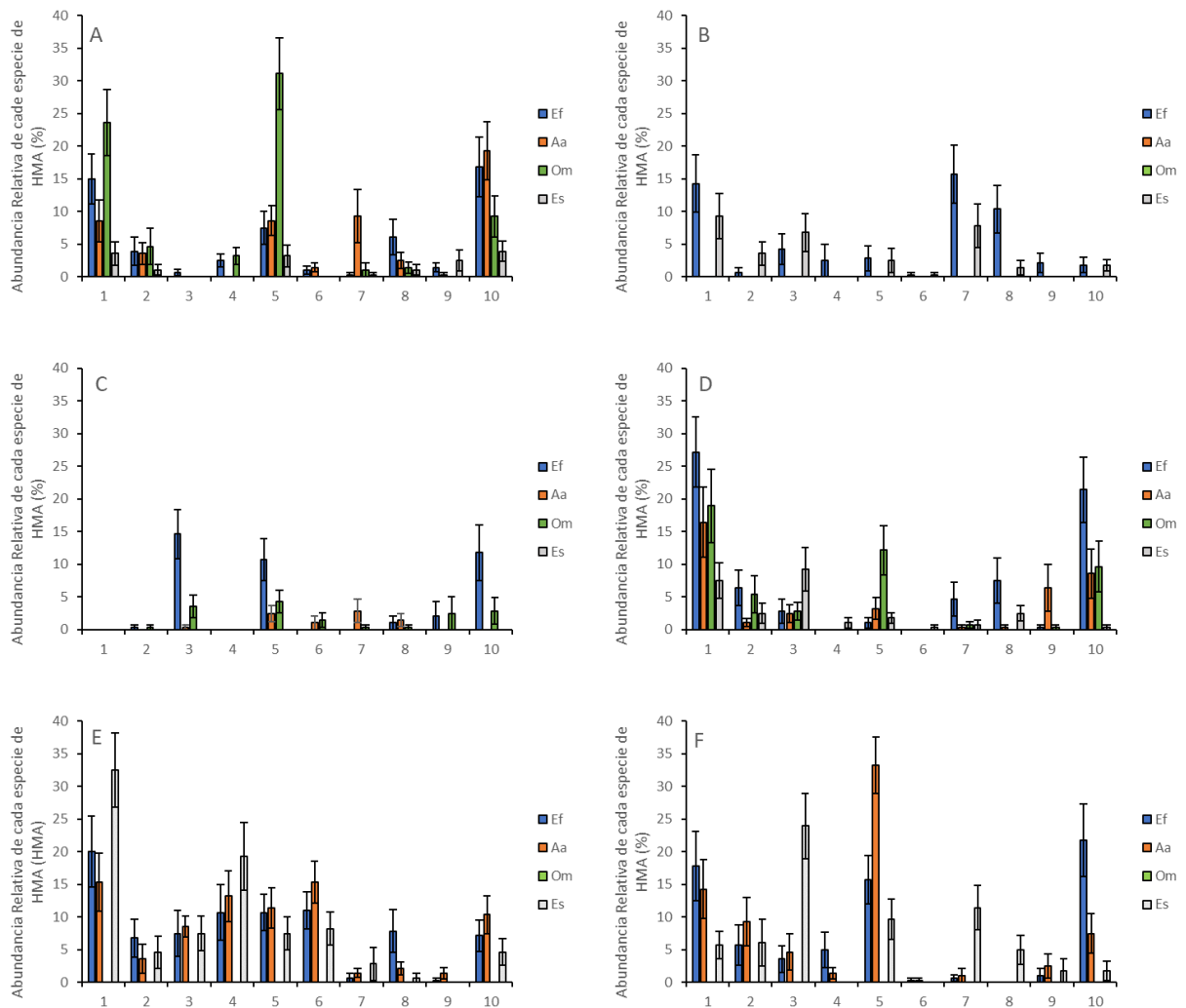


Figura A4.4. Abundancia Relativa de cada especie de HMA (%) en cada especie vegetal en las dunas móviles de cada localidad. A) “La Garrofera”; B) “El Perelló”; C) “Les Palmeres”; D) “El Dosser”; E) “Sant Antoni”; y F) “Burguera”. Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbiglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de 40 muestras.

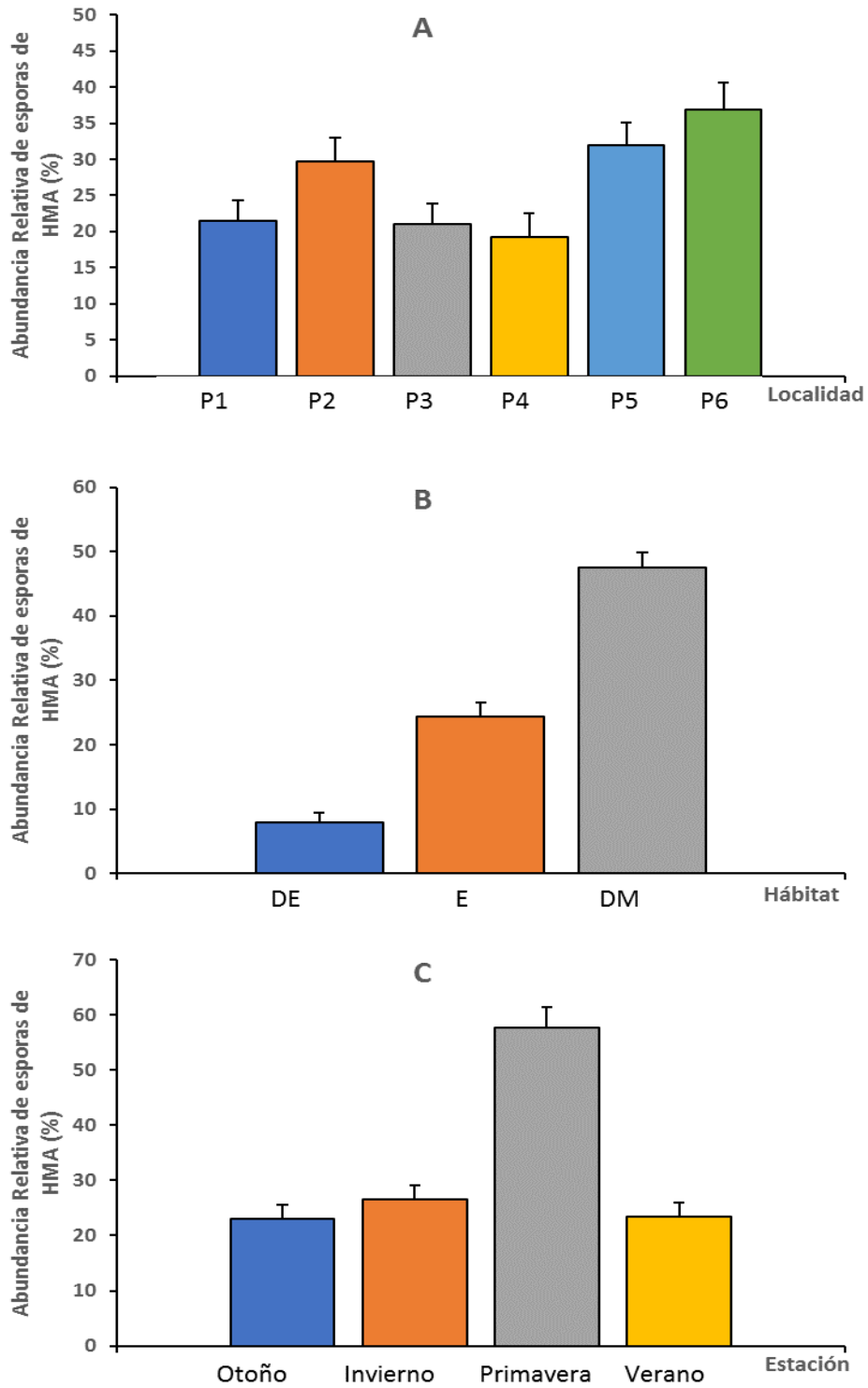


Figura A4.5. Abundancia Relativa de esporas de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando solo *Elymus farctus*. P1, “La Garrofera” (n=120); P2, “El Perelló” (n=120); P3, “Les Palmeres” (n=120); P4, “El Dosser” (n=115); P5, “Sant Antoni” (n=120); y P6, “Burguera” (n=120). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=240); y DM, dunas móviles (n=240). Otoño (n=175); Invierno (n=180); Primavera (n=180); y Verano (n=180). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.

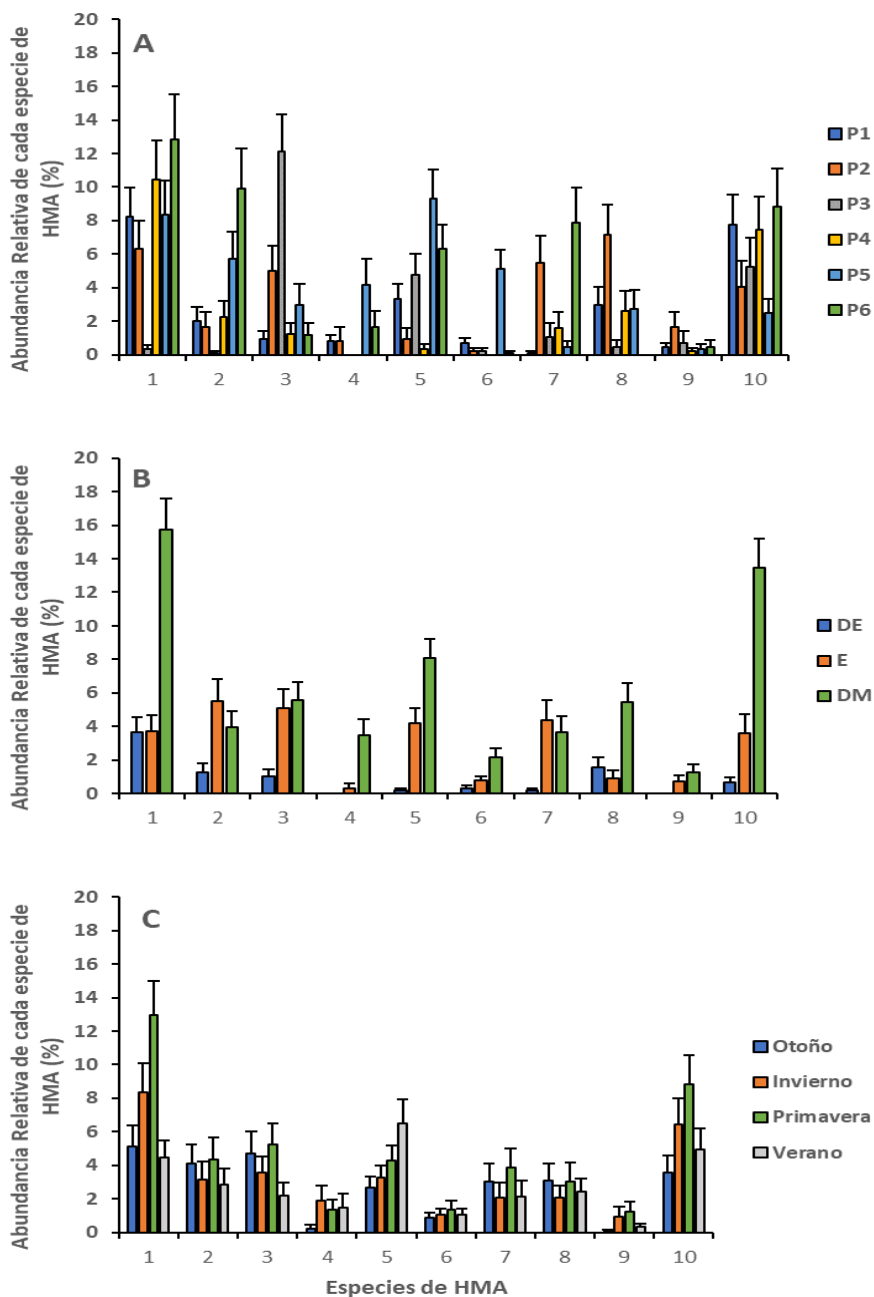


Figura A4.6. Abundancia Relativa de cada especie de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando solo *Elymus farctus*. P1, “La Garrofera” (n=120); P2, “El Perelló” (n=120); P3, “Les Palmeres” (n=120); P4, “El Dosser” (n=115); P5, “Sant Antoni” (n=120); y P6, “Burguera” (n=120). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=240); y DM, dunas móviles (n=240). Otoño (n=175); Invierno (n=180); Primavera (n=180); y Verano (n=180). Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbiglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.

Material suplementario

Tabla S1. Variables consideradas en el estudio. \*Variables consideradas en los modelos de ceros inflados así como en el análisis de Correspondencias canónicas (CCA).

| Abreviación       | Tipo       | Unidades | Media  | Error estándar (SE) | Descripción de la variable   |
|-------------------|------------|----------|--------|---------------------|--|
| Localidad*        | categórica | -        | -      | -                   | Ubicación de muestreo. 6 categorías: P1: "LA GARROFERA"; P2: "EL PERELLÓ"; P3: "LES PALMERES"; P4: "EL DOSSER"; P5: "SANT ANTONI"; P6: "BURGUERA".               |
| Hábitat*          | categórica | -        | -      | -                   | Tipo de hábitat para cada localidad. 3 categorías: DE: DUNAS EMBRIONARIAS; E: ECOTONO; y DM: DUNAS MÓVILES.  |
| Especie Vegetal*  | categórica | -        | -      | -                   | Especies vegetales. 4 categorías: <i>Ef: Elymus farctus</i> ; <i>Aa: Ammophila arenaria</i> ; <i>Om: Otanthus maritimus</i> ; y <i>Es: Echinophora spinosa</i> . |
| Año*              | categórica | -        | -      | -                   | Año de muestreo. 2 categorías: 2014-2015 y 2015-2016.  |
| Estación*         | categórica | -        | -      | -                   | Estación de muestreo. 4 categorías: OTOÑO, INVIERNO, PRIMAVERA y VERANO.   |
| PM*               | continua   | -        | -      | -                   | Período de muestreo de 1 a 8 (4 estaciones x 2 años) .   |
| TotalPrec*        | continua   | mm       | 21.933 | 4.909               | Precipitación total.   |
| MaxPrec           | continua   | mm       | 2.934  | 0.710               | Precipitación máxima   |
| SDTotalPrec       | continua   | mm       | 14.704 | 3.339               | Desviación estándar de TotalPrec.  |
| nPrec*            | continua   | mm       | 4.875  | 0.624               | Número de días con lluvia.   |
| (Prec/nTotal)*100 | continua   | mm       | 16.554 | 2.559               | 100* ((Número de días que llueve) / (número total de días)) .  |
| nPrec>5mm         | continua   | mm       | 0.958  | 0.175               | Número de días con precipitaciones > 5 mm.   |
| Tmax              | continua   | °C       | 23.794 | 1.081               | Promedio de la temperatura máxima diaria.  |
| Tmin              | continua   | °C       | 14.913 | 1.118               | Promedio de la temperatura mínima diaria.  |
| Tmed*             | continua   | °C       | 19.361 | 1.111               | Promedio de la temperatura media diaria.   |
| MaxTmax           | continua   | °C       | 31.513 | 1.449               | Máximo de temperaturas máximas diarias.  |
| MinTmax           | continua   | °C       | 17.304 | 1.402               | Mínimo de temperaturas máximas diarias.  |
| MaxTmin           | continua   | °C       | 20.454 | 0.720               | Máximo de temperaturas mínimas diarias   |
| MinTmin           | continua   | °C       | 10.047 | 1.405               | Mínimo de temperaturas mínimas diarias.  |



|            |           |      |        |       |  |
|------------|-----------|------|--------|-------|--|
| MaxTmed    | continua  | °C   | 25.092 | 0.958 | Máximo de temperaturas medias promedio.  |
| MinTmed    | continua  | °C   | 14.200 | 1.372 | Mínimo de temperaturas medias promedio.  |
| Tmax-Tmin* | continua  | °C   | 8.881  | 0.276 | Promedio de la temperatura máxima diaria - promedio de la temperatura mínima diaria.                     |
| Tmax-Tmed  | continua  | °C   | 4.433  | 0.168 | Promedio de la temperatura máxima diaria - promedio de la temperatura media diaria.                      |
| Tmin-Tmed  | continua  | °C   | -4.448 | 0.121 | Promedio de la temperatura mínima diaria - promedio de la temperatura media diaria.                      |
| SDTmax     | continua  | °C   | 3.054  | 0.194 | Desviación estándar de Tmax.   |
| SDTmin     | continua  | °C   | 2.408  | 0.159 | Desviación estándar de Tmin.   |
| SDTmed*    | continua  | °C   | 2.385  | 0.152 | Desviación estándar de Tmed.   |
| Racha*     | continua  | km/h | 30.407 | 0.874 | Promedio de la Racha diaria de viento.   |
| RachaMax*  | continua  | km/h | 58.188 | 2.243 | Racha máxima de viento.  |
| RachaMin*  | continua  | km/h | 15.896 | 0.867 | Racha mínima de viento.  |
| SDRacha    | continua  | km/h | 10.442 | 0.841 | Desviación estándar de Racha.  |
| Floración* | categoría | -    | -      | -     | Floración de <i>Ef</i> , <i>Aa</i> , <i>Om</i> y <i>Es</i> . Dos categorías: presencia: Sí; ausencia: NO |
| A_E        | continua  | m    | 5.707  | 0.716 | Ancho del Ecotono (combina el ecotono restaurado + sin restaurar).                                       |
| SDA_E      | continua  | m    | 1.869  | 0.509 | Desviación estándar de A_E.  |
| A_DM       | continua  | m    | 32.825 | 8.712 | Ancho de las dunas móviles (combina las dunas móviles restauradas + sin restaurar).                      |
| SDA_DM     | continua  | m    | 3.939  | 1.258 | Desviación estándar de A_DM.   |
| R_DM*      | categoría | -    | -      | -     | Dunas móviles restauradas. Dos categorías: Sí/NO.  |
| A_E_1956   | continua  | m    | 3.650  | 1.417 | Ancho del ecotono sin restauración desde 1956.   |
| SDA_E_1956 | continua  | m    | 1.548  | 0.616 | Desviación estándar A_E_1956.  |
| A_R_DM     | continua  | m    | 7.76   | 1.354 | Ancho de dunas móviles restauradas.  |
| SD_A_R_DM  | continua  | m    | 1.57   | 0.241 | Desviación estándar de A_R_DM.   |
| A_R_E      | continua  | m    | 1.71   | 0.309 | Ancho del ecotono restaurado.  |
| SD_A_R_E   | continua  | m    | 0.27   | 0.053 | Desviación estándar de SD_A_R_E  |
| A_DM_1956* | continua  | m    | 23.517 | 9.303 | Ancho dunas móviles sin restauración desde 1956. Categorizada  |

|                 |            |   |          |         |   |
|-----------------|------------|---|----------|---------|---|
| SDA_DM_1956     | continua   | m | 3.947    | 1.377   | en tres categorías: = 0m, AUSENCIA; =0-10m, ESTRECHO; y =10-60m, ANCHO.<br>Desviación estándar de A_DM_1956.  |
| A_DF_1956*      | continua   | m | 29.630   | 18.646  | Ancho dunas fijas sin restaurar desde el año 1956. Categorizada en tres categorías, = 0m, AUSENCIA; > 0-20m, ESTRECHO; = 110-120m, ANCHO.   |
| SDA_DF_1956     | continua   | m | 9.725    | 4.890   | Desviación estándar de A_DSF_1956.  |
| VEG_DF_1956*    | categórica | - | -        | -       | Dunas fijas con <i>Crucianelletum maritima</i> Br.-Bl. 1933 al menos desde 1956. Dos categorías: SÍ/NO.<br>Ancho de dunas fijas restauradas entre 2010-2014. Categorizada en dos categorías: =0m, AUSENCIA; > 0-10m, PRESENCIA. |
| A_DF_2010-2014* | continua   | m | 1.095    | 0.913   |   |
| E_R_10-14       | categórica | - | -        | -       | Ecotono restaurado entre 2010-2014. Dos categorías: SÍ / NO   |
| Nº_R_DM_01-14   | categórica | - | -        | -       | Número de restauraciones de dunas móviles entre 2001-2014. Tres categorías: NINGUNA, UNA y DOS.   |
| Nº_R_E_01-04    | categórica | - | -        | -       | Número de restauraciones en el ecotono entre 2001-2014. Tres categorías: NINGUNA, UNA y DOS.  |
| Foredunes_DM    | categórica | - | -        | -       | "Foredunes" en dunas móviles superiores a 1m de altura. Dos categorías: presencia, SI y ausencia, NO.   |
| L_SD            | continua   | m | 1865.062 | 641.178 | Longitud del sistema dunar.   |
| C_EDM*          | categórica | - | -        | -       | Crecimiento positivo del ecotono y dunas móviles sin intervención humana. Dos categorías: SÍ / NO.  |
| A_CEDM          | continua   | m | 2.184    | 1.820   | Ancho del crecimiento natural positivo (es decir, excluido el aumento a través de la restauración antropogénica) del ancho combinado de Ecotono y dunas móviles.  |
| Raíces_DM       | categórica | - | -        | -       | Raíces desnudas en las dunas móviles. Dos categorías: SÍ / NO.  |
| A_DM            | continua   | m | 60.736   | 13.024  | Ancho del desierto mesolitoral.   |
| Edad_E*         | categórica | - | -        | -       | Antigüedad del ecotono. Dos categorías: restauración entre 2004-2014: RECIENTE; sin restauración desde, como mínimo, 1956: ANTIGUO.   |

|           |            |       |         |       |  |
|-----------|------------|-------|---------|-------|--|
| R_DM_1956 | categórica | -     | -       | -     | Dunas móviles restauradas parcial o totalmente. Dos categorías =0m AUSENCIA; >0m PRESENCIA.  |
| A_DF_1956 | categórica | -     | -       | -     | Ancho actual de dunas fijas que no ha sido restaurado desde 1956. Tres categorías =0m, AUSENCIA; >0-20m, ESTRECHO; =110-120m, ANCHO. |
| A_R_DF    | categórica | -     | -       | -     | Ancho de las dunas fijas restauradas. Dos categorías. =0m, ausencia; >0-10m, presencia.  |
| Raíces    | continua   | g     | 0.053   | 0.002 | Raíces finas en 16 g de suelo de la rizosfera de <i>Ef</i> en todas las localidades, hábitats, estaciones y años.                    |
| pH        | continua   |       | 7.648   | 0.011 | pH en 16 g de suelo de la rizosfera de <i>Ef</i> en todas las localidades, hábitats, estaciones y años.                              |
| EC        | continua   | μS/cm | 151.334 | 5.026 | Conductividad eléctrica en 16 g de suelo de la rizosfera de <i>Ef</i> en todas las localidades, hábitats, estaciones y años          |

Tabla S2. Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables paisajísticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                 | A_E      | SDA_E    | A_DM     | SDA_DM    | A_E_1956  |
|-----------------|----------|----------|----------|-----------|-----------|
| A_E             |          | 0.033333 | 0.41944  | 0.016667  | 0.016667  |
| SDA_E           | 0.82857  |          | 0.35556  | 0.13611   | 0.016667  |
| A_DM            | 0.37143  | 0.42857  |          | 1.00      | 0.61667   |
| SDA_DM          | 0.88571  | 0.71429  | 0.028571 |           | 0.05      |
| A_E_1956        | 0.94112  | 0.94112  | 0.27323  | 0.88041   |           |
| SDA_E_1956      | 0.94112  | 0.94112  | 0.27323  | 0.88041   | 1.00      |
| A_DM_1956       | 0.11595  | 0.46382  | 0.81168  | -0.11595  | 0.21561   |
| SDA_DM_1956     | 0.46382  | 0.69573  | 0.57977  | 0.46382   | 0.58524   |
| A_R_DM          | -0.46382 | -0.7537  | -0.28989 | -0.52179  | -0.67765  |
| SD_A_R_DM       | -0.86966 | -0.57977 | -0.11595 | -0.92763  | -0.80085  |
| A_R_E           | -0.69825 | -0.88041 | 0.030359 | -0.75897  | -0.87097  |
| SD_A_R_E        | -0.88041 | -0.69825 | 0.091077 | -0.94112  | -0.87097  |
| A_DSF_1956      | 0.057977 | 0.028989 | 0.81168  | -0.086966 | -0.092406 |
| SDA_DSF_1956    | 0.28989  | 0.37685  | 0.98561  | -0.028989 | 0.21561   |
| A_DSF_2010-2014 | 0.13093  | 0.13093  | -0.39279 | 0.13093   | 0.13912   |
| A_DSF_2010-2014 | 0.13093  | 0.13093  | -0.39279 | 0.13093   | 0.13912   |
| VEG_DSF_1956    | -0.39279 | -0.13093 | 0.65465  | -0.65465  | -0.41737  |
| A_DSF_2010-2014 | -0.82808 | -0.82808 | -0.41404 | -0.82808  | -0.87988  |
| E_R_10-14       | -0.87831 | -0.87831 | -0.09759 | -0.87831  | -0.93326  |
| Nº_R_DM_01-14   | -0.92582 | -0.80238 | -0.61721 | -0.80238  | -0.85257  |
| Nº_R_E_01-04    | -0.92582 | -0.83324 | -0.30861 | -0.83324  | -0.88536  |
| Foredunes_DM    | 0.65465  | 0.65465  | 0.39279  | 0.39279   | 0.69561   |
| L_SD            | -0.42857 | -0.71429 | -0.25714 | -0.54286  | -0.63754  |
| CEDM            | 0.65465  | 0.65465  | 0.39279  | 0.39279   | 0.69561   |

|           |         |         |           |         |         |
|-----------|---------|---------|-----------|---------|---------|
| Raíces_DM | 0.65465 | 0.65465 | 0.39279   | 0.39279 | 0.69561 |
| A_DM      | 0.88571 | 0.71429 | -0.028571 | 0.82857 | 0.88041 |

Tabla S2 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables paisajísticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                 | SDA_E_1956 | A_DM_1956 | SDA_DM_1956 | A_R_DM    | SD_A_R_DM |
|-----------------|------------|-----------|-------------|-----------|-----------|
| A_E             | 0.016667   | 0.84444   | 0.37222     | 0.37222   | 0.033333  |
| SDA_E           | 0.016667   | 0.37222   | 0.14444     | 0.10556   | 0.24444   |
| A_DM            | 0.61667    | 0.072222  | 0.24444     | 0.57778   | 0.84444   |
| SDA_DM          | 0.05       | 0.84444   | 0.37222     | 0.3       | 0.022222  |
| A_E_1956        | 0.0083333  | 0.70833   | 0.23333     | 0.15833   | 0.083333  |
| SDA_E_1956      |            | 0.70833   | 0.23333     | 0.15833   | 0.083333  |
| A_DM_1956       | 0.21561    |           | 0.097222    | 0.21389   | 0.87222   |
| SDA_DM_1956     | 0.58524    | 0.76471   |             | 0.022222  | 0.38056   |
| A_R_DM          | -0.67765   | -0.61765  | -0.91176    |           | 0.34167   |
| SD_A_R_DM       | -0.80085   | 0.088235  | -0.44118    | 0.47059   |           |
| A_R_E           | -0.87097   | -0.092406 | -0.46203    | 0.64684   | 0.52363   |
| SD_A_R_E        | -0.87097   | 0.27722   | -0.21561    | 0.33882   | 0.83166   |
| A_DSF_1956      | -0.092406  | 0.60294   | 0.48529     | -0.088235 | 0.00      |
| SDA_DSF_1956    | 0.21561    | 0.86765   | 0.63235     | -0.35294  | -0.088235 |
| A_DSF_2010-2014 | 0.13912    | -0.53137  | -0.53137    | 0.39853   | 0.13284   |
| A_DSF_2010-2014 | 0.13912    | -0.53137  | -0.53137    | 0.39853   | 0.13284   |
| VEG_DSF_1956    | -0.41737   | 0.66421   | 0.13284     | 0.13284   | 0.66421   |
| A_DSF_2010-2014 | -0.87988   | -0.42008  | -0.84017    | 0.84017   | 0.84017   |
| E_R_10-14       | -0.93326   | 0.00      | -0.39606    | 0.49507   | 0.6931    |
| Nº_R_DM_01-14   | -0.85257   | -0.37573  | -0.68885    | 0.5636    | 0.81409   |
| Nº_R_E_01-04    | -0.88536   | -0.046967 | -0.36008    | 0.34442   | 0.68885   |
| Foredunes_DM    | 0.69561    | 0.39853   | 0.39853     | -0.53137  | -0.53137  |

|           |          |          |          |          |          |
|-----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| L_SD      | -0.63754 | -0.57977 | -0.92763 | 0.98561  | 0.46382  |
| CEDM      | 0.69561  | 0.39853  | 0.39853  | -0.53137 | -0.53137 |
| Raíces_DM | 0.69561  | 0.39853  | 0.39853  | -0.53137 | -0.53137 |
| A_DM      | 0.88041  | -0.20292 | 0.14494  | -0.31887 | -0.78269 |

Tabla S2 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables paisajísticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                 | A_R_E    | SD_A_R_E | A_DSF_1956 | SDA_DSF_1956 | A_DSF_2010-2014 |
|-----------------|----------|----------|------------|--------------|-----------------|
| A_E             | 0.16667  | 0.05     | 0.93333    | 0.57778      | 1.00            |
| SDA_E           | 0.05     | 0.16667  | 0.98333    | 0.46667      | 1.00            |
| A_DM            | 1.00     | 0.88333  | 0.072222   | 0.0055556    | 0.66667         |
| SDA_DM          | 0.11667  | 0.016667 | 0.86111    | 0.98333      | 1.00            |
| A_E_1956        | 0.075    | 0.075    | 0.88333    | 0.70833      | 1.00            |
| SDA_E_1956      | 0.075    | 0.075    | 0.88333    | 0.70833      | 1.00            |
| A_DM_1956       | 0.88333  | 0.625    | 0.225      | 0.041667     | 0.5             |
| SDA_DM_1956     | 0.35833  | 0.70833  | 0.32222    | 0.19722      | 0.5             |
| A_R_DM          | 0.2      | 0.46667  | 0.87222    | 0.47778      | 0.66667         |
| SD_A_R_DM       | 0.28333  | 0.066667 | 1.00       | 0.87222      | 1.00            |
| A_R_E           |          | 0.091667 | 0.46667    | 0.88333      | 0.83333         |
| SD_A_R_E        | 0.80645  |          | 0.53333    | 0.74167      | 0.83333         |
| A_DSF_1956      | 0.33882  | 0.30802  |            | 0.052778     | 0.5             |
| SDA_DSF_1956    | 0.092406 | 0.18481  | 0.82353    |              | 0.5             |
| A_DSF_2010-2014 | -0.41737 | -0.41737 | -0.53137   | -0.53137     |                 |
| A_DSF_2010-2014 | -0.41737 | -0.41737 | -0.53137   | -0.53137     | 1.00            |
| VEG_DSF_1956    | 0.41737  | 0.69561  | 0.66421    | 0.66421      | -0.2            |
| A_DSF_2010-2014 | 0.65991  | 0.65991  | -0.21004   | -0.42008     | 0.31623         |
| E_R_10-14       | 0.93326  | 0.93326  | 0.19803    | 0.00         | -0.44721        |

|               |          |          |           |          |          |
|---------------|----------|----------|-----------|----------|----------|
| Nº_R_DM_01-14 | 0.55745  | 0.68862  | -0.40705  | -0.5636  | 0.14142  |
| Nº_R_E_01-04  | 0.78699  | 0.88536  | -0.031311 | -0.18787 | -0.42426 |
| Foredunes_DM  | -0.41737 | -0.41737 | -0.13284  | 0.39853  | -0.2     |
| L_SD          | 0.63754  | 0.33395  | -0.14494  | -0.31887 | 0.39279  |
| CEDM          | -0.41737 | -0.41737 | -0.13284  | 0.39853  | -0.2     |
| Raíces_DM     | -0.41737 | -0.41737 | -0.13284  | 0.39853  | -0.2     |
| A_DM          | -0.75897 | -0.94112 | -0.40584  | -0.11595 | 0.39279  |

Tabla S2 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables paisajísticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                 | A_DSF_2010-2014 | VEG_DSF_1956 | A_DSF_2010-2014 | E_R_10-14 | Nº_R_DM_01-14 |
|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------|---------------|
| A_E             | 1.00            | 0.66667      | 0.13333         | 0.1       | 0.033333      |
| SDA_E           | 1.00            | 1.00         | 0.13333         | 0.1       | 0.066667      |
| A_DM            | 0.66667         | 0.33333      | 0.53333         | 1.00      | 0.23333       |
| SDA_DM          | 1.00            | 0.33333      | 0.13333         | 0.1       | 0.066667      |
| A_E_1956        | 1.00            | 0.83333      | 0.066667        | 0.1       | 0.1           |
| SDA_E_1956      | 1.00            | 0.83333      | 0.066667        | 0.1       | 0.1           |
| A_DM_1956       | 0.5             | 0.16667      | 0.46667         | 1.00      | 0.5           |
| SDA_DM_1956     | 0.5             | 1.00         | 0.13333         | 0.5       | 0.16667       |
| A_R_DM          | 0.66667         | 1.00         | 0.13333         | 0.3       | 0.33333       |
| SD_A_R_DM       | 1.00            | 0.16667      | 0.13333         | 0.2       | 0.066667      |
| A_R_E           | 0.83333         | 0.83333      | 0.33333         | 0.1       | 0.31667       |
| SD_A_R_E        | 0.83333         | 0.16667      | 0.33333         | 0.1       | 0.2           |
| A_DSF_1956      | 0.5             | 0.16667      | 0.66667         | 0.8       | 0.48333       |
| SDA_DSF_1956    | 0.5             | 0.16667      | 0.46667         | 1.00      | 0.33333       |
| A_DSF_2010-2014 | 0.16667         | 1.00         | 1.00            | 1.00      | 1.00          |
| A_DSF_2010-2014 |                 | 1.00         | 1.00            | 1.00      | 1.00          |

|                 |          |          |          |          |          |
|-----------------|----------|----------|----------|----------|----------|
| VEG_DSF_1956    | -0.2     |          | 1.00     | 1.00     | 1.00     |
| A_DSF_2010-2014 | 0.31623  | 0.31623  |          | 0.4      | 0.066667 |
| E_R_10-14       | -0.44721 | 0.44721  | 0.70711  |          | 0.3      |
| Nº_R_DM_01-14   | 0.14142  | 0.14142  | 0.89443  | 0.73786  |          |
| Nº_R_E_01-04    | -0.42426 | 0.28284  | 0.67082  | 0.94868  | 0.83333  |
| Foredunes_DM    | -0.2     | -0.2     | -0.63246 | -0.44721 | -0.56569 |
| L_SD            | 0.39279  | 0.13093  | 0.82808  | 0.48795  | 0.55549  |
| CEDM            | -0.2     | -0.2     | -0.63246 | -0.44721 | -0.56569 |
| Raíces_DM       | -0.2     | -0.2     | -0.63246 | -0.44721 | -0.56569 |
| A_DM            | 0.39279  | -0.65465 | -0.62106 | -0.87831 | -0.64807 |

Tabla S2 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables paisajísticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|             | Nº_R_E_01-04 | Foredunes_DM | L_SD      | CEDM    | Raíces_DM | A_DM     |
|-------------|--------------|--------------|-----------|---------|-----------|----------|
| A_E         | 0.033333     | 0.33333      | 0.35556   | 0.33333 | 0.33333   | 0.016667 |
| SDA_E       | 0.066667     | 0.33333      | 0.13611   | 0.33333 | 0.33333   | 0.13611  |
| A_DM        | 0.56667      | 0.66667      | 0.56389   | 0.66667 | 0.66667   | 1.00     |
| SDA_DM      | 0.066667     | 0.66667      | 0.24167   | 0.66667 | 0.66667   | 0.033333 |
| A_E_1956    | 0.083333     | 0.16667      | 0.2       | 0.16667 | 0.16667   | 0.05     |
| SDA_E_1956  | 0.083333     | 0.16667      | 0.2       | 0.16667 | 0.16667   | 0.05     |
| A_DM_1956   | 0.91667      | 0.66667      | 0.24444   | 0.66667 | 0.66667   | 0.7      |
| SDA_DM_1956 | 0.53333      | 0.66667      | 0.022222  | 0.66667 | 0.66667   | 0.77778  |
| A_R_DM      | 0.53333      | 0.5          | 0.0055556 | 0.5     | 0.5       | 0.54444  |
| SD_A_R_DM   | 0.16667      | 0.5          | 0.37222   | 0.5     | 0.5       | 0.077778 |
| A_R_E       | 0.1          | 0.83333      | 0.2       | 0.83333 | 0.83333   | 0.11667  |
| SD_A_R_E    | 0.083333     | 0.83333      | 0.53333   | 0.83333 | 0.83333   | 0.016667 |
| A_DSF_1956  | 0.95         | 1.00         | 0.77778   | 1.00    | 1.00      | 0.43333  |



|                 |          |          |          |         |         |          |
|-----------------|----------|----------|----------|---------|---------|----------|
| SDA_DSF_1956    | 0.78333  | 0.66667  | 0.54444  | 0.66667 | 0.66667 | 0.84444  |
| A_DSF_2010-2014 | 0.66667  | 1.00     | 0.66667  | 1.00    | 1.00    | 0.66667  |
| A_DSF_2010-2014 | 0.66667  | 1.00     | 0.66667  | 1.00    | 1.00    | 0.66667  |
| VEG_DSF_1956    | 1.00     | 1.00     | 1.00     | 1.00    | 1.00    | 0.33333  |
| A_DSF_2010-2014 | 0.33333  | 0.33333  | 0.13333  | 0.33333 | 0.33333 | 0.26667  |
| E_R_10-14       | 0.1      | 1.00     | 0.4      | 1.00    | 1.00    | 0.1      |
| Nº_R_DM_01-14   | 0.15     | 0.5      | 0.26667  | 0.5     | 0.5     | 0.16667  |
| Nº_R_E_01-04    |          | 0.66667  | 0.5      | 0.66667 | 0.66667 | 0.066667 |
| Foredunes_DM    | -0.42426 |          | 0.66667  | 0.16667 | 0.16667 | 0.33333  |
| L_SD            | 0.33947  | -0.39279 |          | 0.66667 | 0.66667 | 0.56389  |
| CEDM            | -0.42426 | 1.00     | -0.39279 |         | 0.16667 | 0.33333  |
| Raíces_DM       | -0.42426 | 1.00     | -0.39279 | 1.00    |         | 0.33333  |
| A_DM            | -0.83324 | 0.65465  | -0.25714 | 0.65465 | 0.65465 |          |

Tabla S3. Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables climáticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables). Cuando  $r > 0.7$  o  $< -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                   | TotalPrec      | MaxPrec             | SDTotalPrec         | nPrec          | (Prec/nTotal)*100 |
|-------------------|----------------|---------------------|---------------------|----------------|-------------------|
| TotalPrec         |                | 0.00000000000068458 | 0.00000000000012244 | 0.011679       | 0.0080965         |
| MaxPrec           | <b>0.953</b>   |                     | 9,62E-19            | 0.10342        | 0.088518          |
| SDTotalPrec       | <b>0.9676</b>  | <b>0.99413</b>      |                     | 0.091454       | 0.07205           |
| nPrec             | 0.50582        | 0.34057             | 0.35218             |                | 3,09E-15          |
| (Prec/nTotal)*100 | 0.52734        | 0.3552              | 0.37369             | <b>0.98773</b> |                   |
| nPrec>5mm         | <b>0.81222</b> | <b>0.78097</b>      | <b>0.80198</b>      | 0.4169         | 0.42118           |
| Tmax              | -0.066536      | 0.042201            | 0.037391            | -0.42007       | -0.35976          |
| Tmin              | 0.0017395      | 0.09702             | 0.092174            | -0.36094       | -0.30488          |
| Tmed              | -0.053925      | 0.043942            | 0.041739            | -0.39116       | -0.33188          |
| MaxTmax           | -0.30318       | -0.21475            | -0.22048            | -0.46025       | -0.41603          |
| MinTmax           | 0.15699        | 0.24973             | 0.23391             | -0.21902       | -0.17639          |
| MaxTmin           | -0.12035       | -0.018724           | -0.010444           | -0.53421       | -0.4915           |
| MinTmin           | 0.10836        | 0.18394             | 0.17316             | -0.23362       | -0.18109          |
| MaxTmed           | -0.21819       | -0.13972            | -0.13832            | -0.45268       | -0.40741          |
| MinTmed           | 0.19165        | 0.26311             | 0.25185             | -0.15119       | -0.10174          |
| Tmax-Tmin         | -0.56708       | -0.46161            | -0.49217            | -0.48709       | -0.52396          |
| Tmax-Tmed         | -0.54698       | -0.46236            | -0.49054            | -0.47844       | -0.51296          |
| Tmin-Tmed         | 0.54012        | 0.41592             | 0.44522             | 0.4595         | 0.49608           |
| SDTmax            | -0.56578       | -0.59952            | -0.59043            | -0.23172       | -0.22256          |
| SDTmin            | -0.39052       | -0.38199            | -0.37913            | -0.14937       | -0.19077          |
| SDTmed            | -0.63405       | -0.63476            | -0.62957            | -0.33904       | -0.3676           |
| Racha             | -0.24962       | -0.21275            | -0.22348            | -0.28735       | -0.32927          |
| RachaMax          | -0.10181       | -0.14864            | -0.14006            | 0.07647        | 0.067756          |
| RachaMin          | 0.036754       | -0.0072227          | -0.016623           | -0.071397      | -0.080632         |
| SDRacha           | -0.1583        | -0.22275            | -0.2113             | 0.15857        | 0.12631           |

Tabla S3 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables climáticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables).

Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                   | nPrec>5mm    | Tmax     | Tmin       | Tmed     | MaxTmax         |
|-------------------|--------------|----------|------------|----------|-----------------|
| TotalPrec         | 0.0000014375 | 0.7574   | 0.99356    | 0.80239  | 0.14984         |
| MaxPrec           | 0.0000066829 | 0.84477  | 0.652      | 0.83845  | 0.31359         |
| SDTotalPrec       | 0.0000024503 | 0.86229  | 0.66838    | 0.84645  | 0.30053         |
| nPrec             | 0.042694     | 0.040981 | 0.083131   | 0.058744 | 0.023628        |
| (Prec/nTotal)*100 | 0.040399     | 0.08422  | 0.14745    | 0.11311  | 0.043171        |
| nPrec>5mm         |              | 0.73378  | 0.43265    | 0.655    | 0.66733         |
| Tmax              | 0.07324      |          | 2,38E-13   | 1,30E-22 | 0.0000000025332 |
| Tmin              | 0.16799      | 0.98174  |            | 2,84E-15 | 0.000000026681  |
| Tmed              | 0.096127     | 0.99739  | 0.98783    |          | 0.0000000046682 |
| MaxTmax           | -0.092485    | 0.89846  | 0.8728     | 0.89237  |                 |
| MinTmax           | 0.12588      | 0.84609  | 0.84435    | 0.84435  | 0.68406         |
| MaxTmin           | 0.12255      | 0.87772  | 0.88338    | 0.88381  | 0.74276         |
| MinTmin           | 0.1752       | 0.91625  | 0.92756    | 0.92278  | 0.78329         |
| MaxTmed           | -0.029767    | 0.93475  | 0.92562    | 0.93736  | 0.91973         |
| MinTmed           | 0.18661      | 0.87081  | 0.86994    | 0.87429  | 0.70285         |
| Tmax-Tmin         | -0.4074      | 0.13826  | 0.04087    | 0.10174  | 0.40748         |
| Tmax-Tmed         | -0.41344     | 0.096543 | -0.0030441 | 0.060448 | 0.3619          |
| Tmin-Tmed         | 0.34926      | -0.16696 | -0.072174  | -0.13043 | -0.44444        |
| SDTmax            | -0.35521     | 0.013043 | -0.033043  | 0.006087 | 0.33877         |
| SDTmin            | -0.27648     | -0.63391 | -0.64957   | -0.64174 | -0.46662        |
| SDTmed            | -0.38771     | -0.24696 | -0.27391   | -0.25304 | 0.086975        |
| Racha             | -0.27282     | -0.18    | -0.22783   | -0.2     | -0.16351        |
| RachaMax          | -0.085178    | -0.59635 | -0.59243   | -0.61505 | -0.51077        |
| RachaMin          | -0.0069084   | 0.5057   | 0.49301    | 0.51138  | 0.46402         |

SDRacha      -0.089261      -0.78261      -0.76435      -0.7913      -0.64579

Tabla S3 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables climáticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables).  
 Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                   | MinTmax       | MaxTmin       | MinTmin           | MaxTmed          | MinTmed               |
|-------------------|---------------|---------------|-------------------|------------------|-----------------------|
| TotalPrec         | 0.4638        | 0.57538       | 0.61428           | 0.30572          | 0.36966               |
| MaxPrec           | 0.23925       | 0.9308        | 0.38959           | 0.51496          | 0.21416               |
| SDTotalPrec       | 0.27128       | 0.96137       | 0.41843           | 0.51921          | 0.23515               |
| nPrec             | 0.30384       | 0.0071669     | 0.27189           | 0.026336         | 0.48069               |
| (Prec/nTotal)*100 | 0.40965       | 0.01472       | 0.3971            | 0.048152         | 0.63617               |
| nPrec>5mm         | 0.5578        | 0.56834       | 0.41287           | 0.89018          | 0.3826                |
| Tmax              | 0.00000019066 | 0.00000017703 | 0.0000000033128   | 0.00000000023199 | 0.000000031332        |
| Tmin              | 0.00000021391 | 0.00000010805 | 0.00000000070844  | 0.00000000093904 | 0.000000033591        |
| Tmed              | 0.00000021391 | 0.00000010391 | 0.00000000013999  | 0.0000000001499  | 0.000000023598        |
| MaxTmax           | 0.0002278     | 0.000032248   | 0.0000060145      | 0.00000000021116 | 0.00012812            |
| MinTmax           |               | 0.00054533    | 0.000000000011663 | 0.00005327       | 0.0000000000000016691 |
| MaxTmin           | 0.65274       |               | 0.000042923       | 0.0000000041549  | 0.00040167            |
| MinTmin           | 0.95062       | 0.73503       |                   | 0.00000098393    | 0.0000000000000015394 |
| MaxTmed           | 0.72901       | 0.89356       | 0.81915           |                  | 0.000031142           |
| MinTmed           | 0.97303       | 0.66413       | 0.97323           | 0.74369          |                       |
| Tmax-Tmin         | -0.12609      | 0.050479      | -0.090929         | 0.20748          | -0.14137              |
| Tmax-Tmed         | -0.16873      | 0.019369      | -0.12837          | 0.16859          | -0.18164              |
| Tmin-Tmed         | 0.084348      | -0.059182     | 0.051773          | -0.22793         | 0.10135               |
| SDTmax            | -0.38957      | -0.020017     | -0.19534          | 0.18312          | -0.3284               |
| SDTmin            | -0.8287       | -0.33899      | -0.82793          | -0.46846         | -0.86603              |
| SDTmed            | -0.6087       | -0.069191     | -0.46639          | -0.0052197       | -0.59504              |
| Racha             | -0.23304      | -0.040905     | -0.21579          | -0.038278        | -0.26446              |
| RachaMax          | -0.602        | -0.39138      | -0.64244          | -0.45648         | -0.67189              |

|          |          |          |          |          |         |
|----------|----------|----------|----------|----------|---------|
| RachaMin | 0.55863  | 0.37282  | 0.61043  | 0.52342  | 0.58207 |
| SDRacha  | -0.73739 | -0.55135 | -0.80922 | -0.66725 | -0.8134 |

Tabla S3 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables climáticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables).  
 Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                   | Tmax-Tmin | Tmax-Tmed | Tmin-Tmed         | SDTmax     | SDTmin         |
|-------------------|-----------|-----------|-------------------|------------|----------------|
| TotalPrec         | 0.0038563 | 0.0056748 | 0.0064401         | 0.0039571  | 0.059197       |
| MaxPrec           | 0.023169  | 0.022916  | 0.043231          | 0.0019599  | 0.065472       |
| SDTotalPrec       | 0.014563  | 0.014945  | 0.029246          | 0.0023859  | 0.067685       |
| nPrec             | 0.015777  | 0.018033  | 0.023889          | 0.27593    | 0.48604        |
| (Prec/nTotal)*100 | 0.0085895 | 0.010368  | 0.013684          | 0.29588    | 0.3719         |
| nPrec>5mm         | 0.048159  | 0.044625  | 0.094358          | 0.088503   | 0.19093        |
| Tmax              | 0.51939   | 0.6536    | 0.43554           | 0.95176    | 0.00088071     |
| Tmin              | 0.84962   | 0.98874   | 0.73752           | 0.87818    | 0.00059259     |
| Tmed              | 0.63618   | 0.77903   | 0.54353           | 0.97748    | 0.00072438     |
| MaxTmax           | 0.048109  | 0.082257  | 0.029561          | 0.10538    | 0.021528       |
| MinTmax           | 0.55715   | 0.4306    | 0.69516           | 0.059875   | 0.00000056818  |
| MaxTmin           | 0.8148    | 0.92842   | 0.78355           | 0.92603    | 0.10514        |
| MinTmin           | 0.67262   | 0.54997   | 0.81013           | 0.36032    | 0.00000059444  |
| MaxTmed           | 0.33064   | 0.431     | 0.28409           | 0.39172    | 0.020949       |
| MinTmed           | 0.50996   | 0.39563   | 0.63749           | 0.11717    | 0.000000045671 |
| Tmax-Tmin         |           | 9,35E-17  | 3,69E-12          | 0.00055353 | 0.14941        |
| Tmax-Tmed         | 0.99109   |           | 0.000000000026387 | 0.00030817 | 0.12461        |
| Tmin-Tmed         | -0.97652  | -0.94673  |                   | 0.00084367 | 0.21507        |
| SDTmax            | 0.65217   | 0.67362   | -0.63565          |            | 0.074035       |
| SDTmin            | 0.30348   | 0.32224   | -0.26261          | 0.3713     |                |
| SDTmed            | 0.60087   | 0.611     | -0.58522          | 0.83304    | 0.73304        |

|          |           |          |            |           |          |
|----------|-----------|----------|------------|-----------|----------|
| Racha    | 0.21826   | 0.24527  | -0.16261   | 0.19739   | 0.29652  |
| RachaMax | 0.089604  | 0.12399  | -0.057851  | 0.17486   | 0.63027  |
| RachaMin | 0.050745  | 0.063007 | -0.026247  | 0.0056869 | -0.64831 |
| SDRacha  | 0.0086957 | 0.025223 | -0.0026087 | 0.068696  | 0.7687   |

Tabla S3 (continuación). Valores de correlación de Spearman (r) entre las variables climáticas estudiadas (ver en tabla S1 la descripción de las variables).  
 Cuando  $r > 0.7$  o  $r < -0.7$  se consideró que 2 variables estuvieron correlacionadas.

|                   | SDTmed        | Racha   | RachaMax   | RachaMin  | SDRacha      |
|-------------------|---------------|---------|------------|-----------|--------------|
| TotalPrec         | 0.00087772    | 0.23946 | 0.63596    | 0.86461   | 0.46005      |
| MaxPrec           | 0.00086246    | 0.31823 | 0.4882     | 0.97328   | 0.29546      |
| SDTotalPrec       | 0.00097949    | 0.29385 | 0.51391    | 0.93855   | 0.32161      |
| nPrec             | 0.10508       | 0.17336 | 0.72248    | 0.74025   | 0.45927      |
| (Prec/nTotal)*100 | 0.077198      | 0.11615 | 0.75308    | 0.708     | 0.55646      |
| nPrec>5mm         | 0.061208      | 0.19712 | 0.6923     | 0.97444   | 0.67831      |
| Tmax              | 0.24468       | 0.39999 | 0.0021007  | 0.011703  | 0.0000062044 |
| Tmin              | 0.19525       | 0.28431 | 0.0022861  | 0.014371  | 0.000013735  |
| Tmed              | 0.23286       | 0.34876 | 0.0013813  | 0.010647  | 0.0000041373 |
| MaxTmax           | 0.68613       | 0.4452  | 0.010757   | 0.022367  | 0.00065327   |
| MinTmax           | 0.0015974     | 0.27312 | 0.0018556  | 0.0045496 | 0.000039377  |
| MaxTmin           | 0.74802       | 0.84949 | 0.058591   | 0.072775  | 0.005228     |
| MinTmin           | 0.021601      | 0.31119 | 0.00071167 | 0.0015358 | 0.0000016858 |
| MaxTmed           | 0.98069       | 0.85906 | 0.024947   | 0.0086696 | 0.00036856   |
| MinTmed           | 0.002161      | 0.21173 | 0.00032369 | 0.0028454 | 0.0000013495 |
| Tmax-Tmin         | 0.0019026     | 0.30555 | 0.67714    | 0.81384   | 0.96783      |
| Tmax-Tmed         | 0.0015158     | 0.24802 | 0.56377    | 0.76992   | 0.90687      |
| Tmin-Tmed         | 0.0026642     | 0.44775 | 0.78831    | 0.9031    | 0.99035      |
| SDTmax            | 0.00000043752 | 0.35521 | 0.4138     | 0.97896   | 0.74976      |

|          |             |          |            |            |               |
|----------|-------------|----------|------------|------------|---------------|
| SDTmin   | 0.000046126 | 0.15943  | 0.00096276 | 0.00061228 | 0.000011441   |
| SDTmed   |             | 0.097598 | 0.049915   | 0.25742    | 0.041952      |
| Racha    | 0.34609     |          | 0.026453   | 0.19315    | 0.28055       |
| RachaMax | 0.40452     | 0.45237  |            | 0.15185    | 0.00000017045 |
| RachaMin | -0.2406     | 0.27516  | -0.30176   |            | 0.0054638     |
| SDRacha  | 0.41826     | 0.22957  | 0.84776    | -0.549     |               |

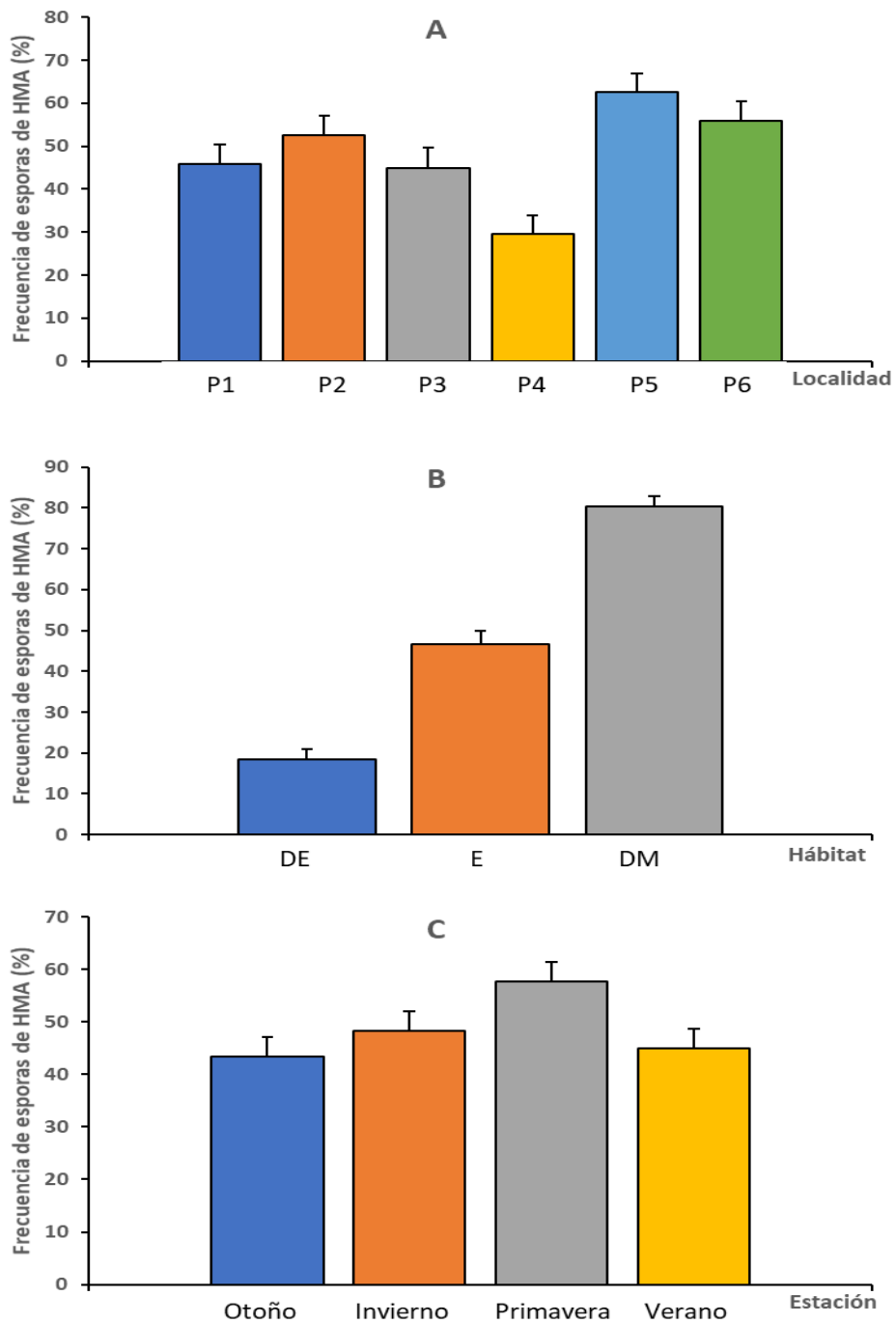


Figura S1. Frecuencia de esporas de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando solo *Elymus farctus*. P1, “La Garrofera” (n=120); P2, “El Perelló” (n=120); P3, “Les Palmeres” (n=120); P4, “El Dosser” (n=115); P5, “Sant Antoni” (n=120); y P6, “Burguera” (n=120). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=240); y DM, dunas móviles (n=240). Otoño (n=175); Invierno (n=180); Primavera (n=180); y Verano (n=180). Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.



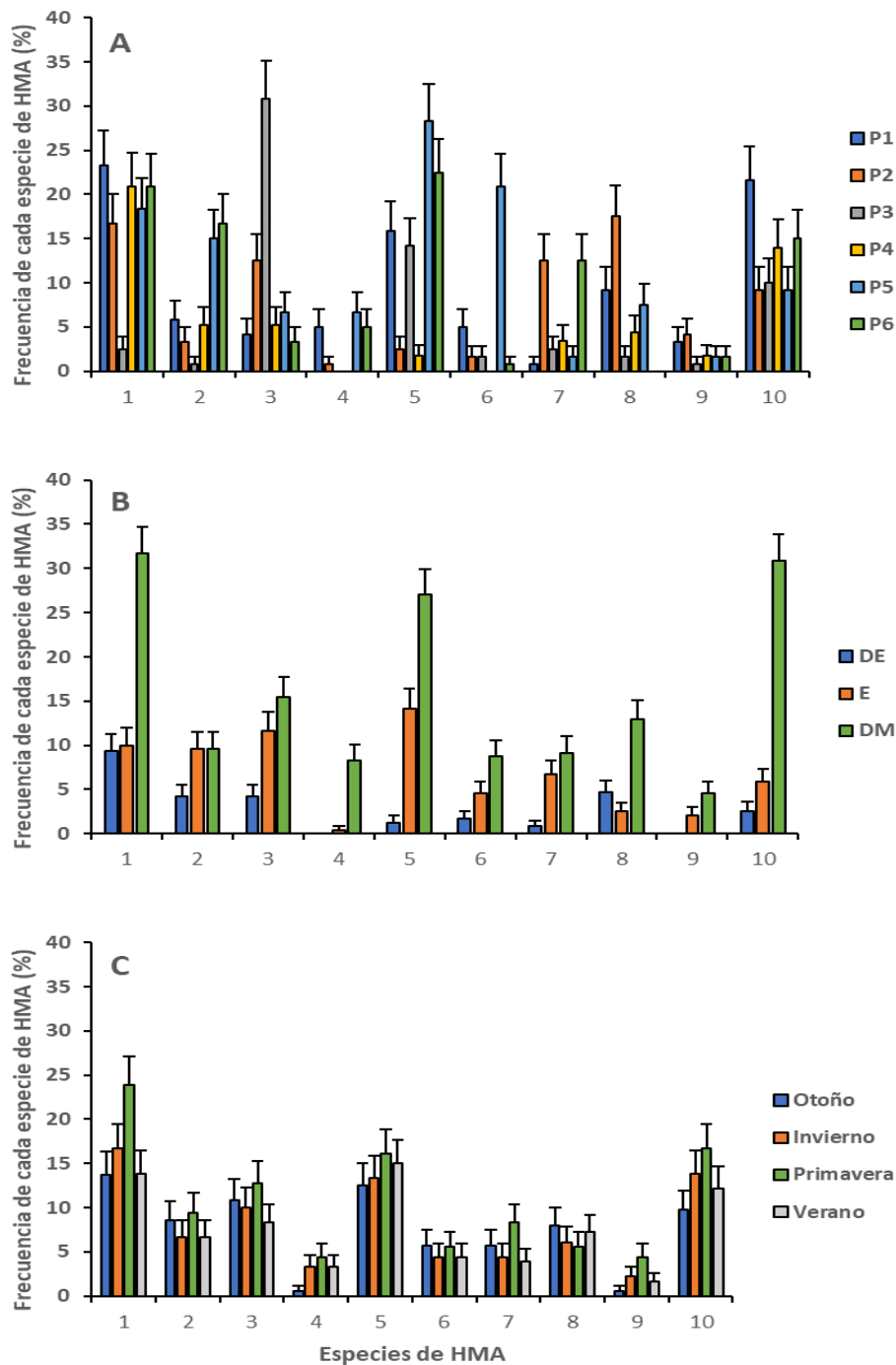


Figura S2. Frecuencia de cada especie de HMA (%) en cada localidad (A), hábitat (B) y estación (C) considerando solo *Elymus farctus*. P1, “La Garrofera” (n=120); P2, “El Perelló” (n=120); P3, “Les Palmeres” (n=120); P4, “El Dosser” (n=115); P5, “Sant Antoni” (n=120); y P6, “Burguera” (n=120). DE, dunas embrionarias (n=235); E, ecotono (n=240); y DM, dunas móviles (n=240). Otoño (n=175); Invierno (n=180); Primavera (n=180); y Verano (n=180). Especies de HMA: 1, *Diversispora aurantia*; 2, *Diversispora valentina*; 3, *Corymbioglomus corymbiforme*; 4, *Cetraspora sucrosa*; 5, *Racocetra papillosa*; 6, *Racocetra sicanica*; 7, *Scutellospora deformata*; 8, *Funneliformis pillosus*; 9, *Glomus ibericum*; 10, *Septoglomus mediterraneum*. Los datos corresponden a la media  $\pm$  SE de n muestras.

